

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

50巻

3号

1988

第66回日本生理学会大会ご案内（第1報）

総 説

野間昭典, 光家 保: ナトリウム電流不活性化過程は活性化に依存する……………103

原 著

中谷 昭: マウス骨格筋ミオグロビンの単離とその諸特性について……………112

学会抄録 第38回西日本生理学会……………127

お知らせ THIRD ANNUAL REPORT OF THE SHERRINGTON LIBRARY
FOR THE HISTORY OF NEUROSCIENCE……………143

日本学術会議だより

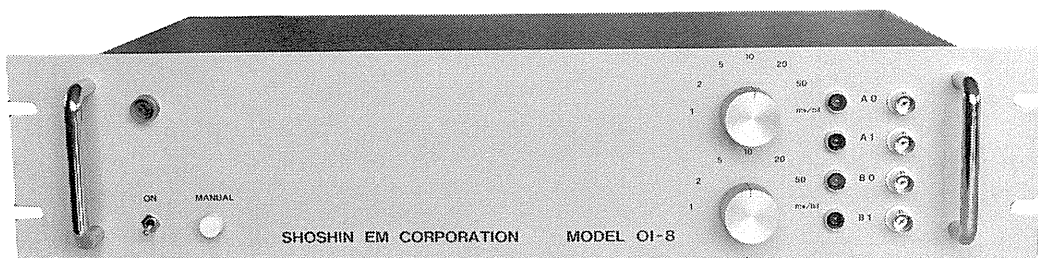
公開講演会開催さる……………145

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会

生理学，薬理学の研究実験に!!

Trigger入力により各種パルス及びファンクションを出力!!



コンピュータースティムレーター OI-8型

¥298,000

既生概念に囚れないシンプルな意匠のコンピュータースティムレーター OI-8型は
外観からは想いもつかない高性能な電気刺激装置です。

特長

NEW

- ・信頼性の高いマイクロプロセッサ制御
- ・RS232Cシリアルインターフェースにて外部からの制御可※
- ・内部トリガー，外部トリガー，マニュアルトリガーの3つのトリガー入力の完備
- ・発生波形はシングルパルス，ダブルパルス，P/4パルスモードを持ち，正弦波，三角波，台形波，ランプ波です。
- ・256シーケンスまでの反復出力可能
- ・出力最大振幅は $\pm 0.128V$ (1mV/bit) から $\pm 6.4V$ (50mV/bit)
- ・パルス幅は100マイクロ秒から256秒で可変可能

※ コンピューター，又はCRTディスプレイが必要です。
(ハンドヘルドコンピューターでも可)

製造・販売



ショーシンEM株式会社

〒444 愛知県岡崎市羽根東町2丁目8番地の5 福樹ビル

TEL. (0564) 54 - 1 2 3 1 代表

FAX. (0564) 54 - 3 2 0 7

第66回日本生理学会大会ご案内 (第1報)

第66回日本生理学会大会を次の通り開催致しますので多数ご参加下さい。

1. 会 期 昭和64年4月5日(水), 6日(木), 7日(金)
2. 会 場 岡山大学教養部(津島キャンパス)岡山市津島中1丁目1番
(JR山陽本線 岡山駅より北2km バス 約15分)
3. 発表形式
口演発表およびポスター展示
4. 演題申し込み
1) 従来通りとし, 演題申し込み(邦文予稿集抄録を含む)等の締め切りは昭和63年11月10日(木)必着とします。
2) 発表演題数は無制限とします。ただし, 同一研究者(演者)の口演あるいはポスター発表は1題にかぎります。
5. 宿 泊
旅行業務の斡旋は日本交通公社岡山支店(☎0862-32-7278, 担当: 難波, 野口, 浅津)に委託します。各自手配されても結構です。
6. 詳細は第2報として日本生理誌50巻7号に掲載致します。

第66回日本生理学会大会当番幹事

中 山 沃
堀 泰 雄
足 立 明

連絡先 ☎700 岡山市鹿田町2丁目5番1号
岡山大学医学部生理学教室内
第66回日本生理学会大会係
☎0862-23-7151
内線 2263, 2252

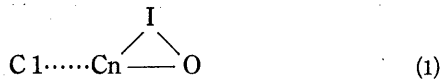
ナトリウム電流不活性化過程は活性化に依存する

野間昭典・光家保
(九州大学医学部第二生理学教室)

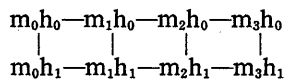
The sodium inactivation is dependent on activation. Akinori NOMA and Tamotsu MITSUIYE (*Dept. of Physiology Faculty of Medicine Kyushu University Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka*)

1. 序

Hodgkin と Huxley²⁸⁾が提唱した膜の興奮モデル(H-H)は現在でも最も基本的なもので、いろいろな細胞の興奮現象を説明するのに広く用いられている。なかでもナトリウム電流は殆ど全ての興奮細胞に共通に見られるもので、その時間変化は互いに独立な活性化変数 m と不活性化変数 h との積で表されている。一方 Hoyt^{31, 32)}は活性化と不活性化の機構は完全に独立ではなく、お互いに関係している可能性を指摘していた。最近のパッチクランプ法による単一ナトリウムチャンネル電流の解析では複数の閉状態(Cn)と開状態(O), それに不活性化状態(I)を仮定するモデルが一般的に用いられている(OもIも一つとは限らない)。



これに対して、H-Hモデルを同様に各状態間の移行で表すと、



となり、 m ゲートと h ゲートが独立であることは対応する状態間の移行が共通の不活性化速度で行われると仮定することに依って説明される。(1)のモデルでは実験上求められたC, Iの速度とO, Iの速度は多くの場合等しくない。このことは既に不活性化がチャンネルの活性化状態に依って変化することを示唆しているのであり、H-Hモデルと異なり二つの過程は独立

ではない。

Chandler と Meves¹⁴⁾と Bezanilla & Armstrong⁷⁾はイカ神経で強い脱分極中僅かのナトリウム定常電流があり、これを説明するには第二番目の不活性化速度の異なる開状態を仮定しないといけないと結論した。また組織によっては、ナトリウム電流の不活性化が複数の成分を示すこと^{15, 53)}、不活性化が脱分極後僅かの遅れを伴って進行すること^{6, 7, 24, 25)}が知られており、これらは単一指数関数的な不活性化を前提とし、潜時を仮定しないH-Hモデルでは説明できない²²⁾。これらの報告に対して Gillespie と Meves²⁰⁾は不活性化の遅延はピーク電流の際の m パラメーターの値が先行するパルスによって異なることと、膜電位固定の実験誤差により生じた見かけ上のものであり、結論が間違っていると結論した。これに対し Bean⁶⁾はこれらの点に十分な対策をし実験を行っても、やはり不活性化には遅延があることを報告した。不活性化の進行に明らかな遅延が観察されたことを説明するために、Bezanilla と Armstrong⁷⁾は不活性化が活性化の進んだ段階で初めて進行すると仮定した。

Goldman と Shauf²³⁾は Myxicola の巨大神経で脱分極中のナトリウム電流の消失の速さがダブルパルス法でみた不活性化に比べて速いことを観察している。彼らは、これを活性化されたチャンネルの不活性化が活性化を受けてないものに比べて速い為であるとしている。我々は同様の実験を心筋において試みたところ、やはり脱分極中のナトリウム電流の消失過程がダブルパルス不活性化に比べ数十倍速く進行することを観察した³⁹⁾。

ゲーティング電流の実験では不活性化にともないチャンネル活性化時のゲーティングチャージが小さくなることが観察された (Gating Charge Immobilization)^{5,38,41,54}). このことは以上に述べたことと逆に活性化機序も不活性化によって影響されることを示唆している。

H-Hモデルでは説明できない実験結果が報告されているにもかかわらず、現在でもH-Hモデルが多くの研究の前提になっている。問題について現在まで研究者間に合意が出来ていない理由は、ナトリウム電流が大きく、しかも極めて速い経過を示すため、測定電気回路中に存在する直列抵抗による実験誤差が生じる可能性があり、正確な測定が難しく、多くの報告の実験結果そのものに疑問があるためである。またチャンネルの run-down 現象に象徴されるような細胞内が人工液で置き換えられると不活性化の過程が時間と共に変化する可能性や、異なる種の標本によってはナトリウムチャンネルの分子構造に僅かの違いがあり、開閉機構に差がある可能性も考慮する必要があるかも知れない。このような視点から活性化機序と不活性化機序は互いに独立でない結論されるか否か最近の報告の一部をまとめ考察する。ナトリウムチャンネルに関する論文は極めて多く、これらをすべて読むことは我々には不可能で、限られた範囲での議論であることを断わらなければならない。

II. 脱分極中の不活性化は単一指数関数で表せるか

イカ巨大神経ナトリウム電流の不活性化が単一の指数関数でよく説明できることは不活性化を一つのパラメーター h の時間変化で説明する H-Hモデルの基礎になっている。一個の GH3細胞にパッチクランプ法の whole cell clamp を適用して記録されたナトリウム電流の不活性化の過程は、単一指数関数で表された⁵⁶). 心筋細胞でも多細胞標本を使った実験では単一指数関数的な不活性化が記載されていた。しかしながら、ランビエ絞輪ナトリウム電流の不活性化

は二つの指数関数の和で表されている^{15,58}). コラゲナーゼ処理によって単離した心筋細胞の実験では単一指数関数であるとする論文⁸)を除いて、殆どのものでは二つの指数関数の和でよく表されている^{9,37,59}). 膜電位固定は単離した細胞でより完全であることを考えると、不活性化は単純に指数関数的には表せないと考えられる。さらに、単一チャンネル電流の加算で得られる平均電流の不活性化の経過はラット心室筋の記録では明らかに二つの指数関数の和でよく近似されている^{11,36,45}).

Patlak と Ortiz⁴⁵)は遅い成分に対応する単一チャンネル電流を観察したところ、速い成分と同じコンダクタンスで、TTXによって抑制されるので、遅い成分も速い成分と同じナトリウムチャンネルに基づくと考えた。しかし、開確率が比較的高く複数のチャンネルが含まれているにも関わらず、チャンネル電流の重なりが見られないことから、パッチ膜中の特定のチャンネルが繰り返し開いていることに依ると考えた。つまりカイネティックスの異なるチャンネルがあることを示唆している。約3,000回に一回150 msのパルス中不活性化の見られない記録が得られたが、これが心プルキンエ細胞で記録されている僅かの定常状態ナトリウム電流に対応するのかも知れない¹²). 同様の所見がラット新生児心筋でも観察されている³⁶). Neuroblastoma cellでも不活性化の時間経過は二つの成分に分けられた⁴⁰). 細胞全体を流れるナトリウム電流を記録しても、それが均一でない多くのチャンネル集団に基づいているのであるとすると、解析の根拠が崩れることになる。

Chandler と Meves¹⁴)は NaF で灌流したイカ神経の定常状態不活性化曲線が脱分極側で再び立ち上がること、この電位での不活性化は過分極側で見られる不活性化とその回復の速さが異なることから、 h ゲートが O_1-C-O_2 で表されるような2つの開状態を持つとするモデルを提案した。このモデルではチャンネルの開確率は $m^3(h_1+h_2)$ で表される。Chiu¹⁵)はランビエノードで不活性化及びその回復過程が共に

二つの指数関数の和で表されることを観察し、活性化と不活性化は独立であるという前提で、二つの不活性化状態を仮定して実験結果を説明している。

O-I1-I2

ナトリウム電流の消失過程が複数の成分に分けられることは後に述べるように、一つの細胞のナトリウムチャンネルに性質を異にするグループがあると仮定しても説明できる。

Bean⁶⁾はザリガニ巨大神経で外液でナトリウム濃度を1/4にし、直列抵抗を完全に補償した実験で、ナトリウム電流は+40mVより正電位側を除いてほぼ完全に単一指数関数で表すことが出来た。低温(3~4℃)や低ナトリウム濃度でカイネティックスに変化がないとすると、この結果は動物種や組織によって不活性化の機序が異なる可能性を示している。

Ⅲ. 不活性化の進行には遅れがあるか

H-Hモデルでは不活性化は脱分極後その電位で決まる速度で指数関数的に進行する。ダブルパルス法で不活性化の進行をイカ神経で測定したところ、電位変化後、遅延なく指数関数的に不活性化が進行したとする報告¹³⁾以後、これとは反対に、ダブルパルス法で測定した不活性化は遅延を持ってシグモイダルに進行するという結果がイカ神経⁷⁾、Myxicola巨大神経^{23,51)}、カエル神経^{35,46)}で報告された。イカ神経のゲーティング電流の測定でも不活性化の進行には+10mVで約0.7msの遅れが記録されている⁵⁾。これを説明する最も単純な考えでは、不活性化が活性化の進んだ段階で初めて進行すると仮定する。

C4-C3-C2-C1-O-I

このモデルでは不活性化されるために必ず開状態を経なくてはならない。これに対し活性化の進行と不活性化が関連するとしながらも、このモデルでは不活性化の遅延が大きすぎることから、開状態からの不活性化以外に活性化のある程度進んだ閉状態(例えばC1)からの不活性化もあると結論している^{6,29)}。このような活性化

と不活性化を関連させる考え方に対して、GillespieとMeves²⁰⁾はこれらの結果は脱活性化のパルス(二連パルスの間の短い再分極パルス)を加えないため、あるいは直列抵抗による人工産物であると強く反論した。Bean⁶⁾はこれに対して十分な脱活性化パルスを加え、かつ外液のナトリウム濃度を減少させた条件で実験を行い、やはり不活性化がシグモイダルに進行することを確認している。それまでの多くの報告では不活性化の遅延に人工産物が関与していた可能性は確かに否定できないが、これらをすべて人工産物で説明するのは創造的批判といえない。BezanillaとArmstrong⁷⁾はプロネースで不活性化を選択的に抑制した後の電流記録を処理前の記録と比較し、不活性化の進行が遅れを伴って進行することを示していることは重要である。現在では脱分極によるナトリウムチャンネルの不活性化に遅れはないとする積極的な論文はないと考えた方が良いと考えられる。

Ⅳ. 脱分極中のナトリウム電流の消失の速さとダブルパルス法で測定した不活性化の速さは一致するか

Neuroblastoma細胞で単一チャンネル電流を記録すると、Aldrich等の研究²⁾では殆どの場合チャンネルは脱分極で一回だけ開いた。しかも、脱分極後最初の開遷移までの時間(潜時)の分布で平均電流の不活性化の時間経過を説明することが出来たので、活性化が遅く、開状態からの不活性化が極めて速いと仮定しないと説明できないとした。この仮定は従来のH-Hモデルで速い活性化と遅い不活性化を仮定するのと逆である。そのためその後には発表された論文にはこの仮説を検証するものが多いが、それらの報告ではチャンネルは繰り返し開いたり、また速い活性化が見られるなど、実験結果そのものが異なっている。不活性化機序をNBAで選択的に抑制した後の単一チャンネルの平均開時間は10倍以上延長したこともこの仮説に反する⁴⁴⁾。どちらかの実験結果が誤っていると考えるよりも、チャンネル活動が実験条件、あるい

は培養条件に依って異なっていると考えた方が妥当ではないだろうか。

Goldman と Schauf²³⁾等は Myxicola の巨大神経で脱分極中のナトリウム電流の消失の速さがダブルパルス法でみた不活性化に比べて速いことを観察している。彼らは、脱分極中の電流でみられる速い不活性化は活性化されたチャンネルの速い不活性化の為であるとしている。同様の報告はザリガニ神経⁴²⁾でも報告されているが、Bean⁶⁾はこれと異なり、ダブルパルスによって測定した不活性化の速度は、脱分極中の電流の消失過程と一致する結果を得ている。Goldman と Kenyon²⁵⁾は再び Myxicola 神経線維で Gillespie と Meves²⁰⁾の指摘した問題点に注意を払い、実験を行った結果、やはり不活性化には遅れがあること、脱分極中の不活性化の経過は二連パルス法で測定したものよりも速いことを確かめた。これらの他に脱分極中の電流の消失過程とダブルパルス不活性化を広い膜電位範囲で詳細に比較した実験報告は見あたらない。この現象が観察される電位が電流-電圧曲線の負の勾配を与える領域であり、膜電位固定が最も直列抵抗などの影響で不完全になり易い。そのため実験結果そのものを疑う立場の人が多いが、十分な追試が為されていないようである。しかしながら、このような実験結果を説明できるモデルはきわめて制限されることを考えるとこの問題は結論を出さなければならない。我々は同様の実験を心筋において試み、やはり脱分極中のナトリウム電流の消失過程がダブルパルス不活性化に比べ数十倍速く進行することを観察した。不均一なチャンネル集団、あるいは組織によってカイネティクスに差があると考えるのが最も簡単な説明である。

V. 不活性化と脱不活性化の時間経過は対称か

H-Hモデルでは不活性化は h パラメーターのみの関数であるから、電位が一定であれば h が減少する過程(不活性化)も増加する過程(脱不活性化)も同じ様な時間経過を示す。これを

確かめる実験がきわめて少ない。心筋では不活性化からの回復過程は不整脈の発生機序に関係することなどから、古くから興味をもたれているテーマである。心筋多細胞標本では不活性化からの回復が同じ電位での不活性化の進行よりも数十倍遅いとの報告があった^{9,19,26)}。これとは異なり、両者の時定数は胎児心筋から培養した標本では等しく、ナトリウム電流は H-H モデルでよく説明できたという報告がある¹⁸⁾。最近我々の開発した単一心筋細胞のオイル間隙による膜電位固定実験では過分極による脱不活性化は指数関数的に進行するが、同じ電位の不活性化はより遅く、最初に遅れがあることがわかった。不活性化の機序を明らかにするために必要な所見であるから、今後この点についての研究が望まれる。

VI. その他の互いに依存する機序を支持する所見

イカのナトリウム電流の不活性化はプロネース、キモトリプシン、N-bromoacetamide, glyoxal, 2,3-butanedione, tetranitromethane の細胞内灌流や、iodination によって特異的に除去される^{3,10,17,43,44,52)}。プロネースや NBA の処理では、しかしながら、不活性化が抑制されたとはいっても、脱分極を長く続けるとはやはり電流は徐々に不活性化する^{43,48)} chloramine-T をイカ巨大神経に作用させると脱分極中の不活性化が消失するが、一分間各電位に膜電位を保持して得られる遅い不活性化の機序はやはり残る⁵⁷⁾。これらの結果は不活性化の機序に少なくとも二つの機序があるとする仮説を支持している^{1,14,50)}。Bezanilla と Armstrong⁷⁾はプロナーゼ処理前後の電流記録を比較して、不活性化の時間変化を見積っている。それによると脱分極後約 0.5 ms の間二つの記録には殆ど差が認められず、それ以降に不活性化が進行すると考えられる。同様の所見が Rojas と Rudy⁴⁸⁾によっても得られている。最も簡単な仮説はチャンネルは活性化後に不活性化するというものである。Patlak と Horn⁴⁴⁾の結果では、NBA 作

用後に平均電流の立ち上がりが僅かに速くなると述べているが、詳細な解析はされていない。これらの報告以外には同様な実験が試みられていない。

ゲーティング電流の実験から、活性化と不活性化が相互に依存性を持つということを強く示唆する報告がされている^{4,5,38,41,54}。不活性化に対応するゲーティング電流は今まで記録されず、不活性化の過程では膜を横切る電荷の移動はないと考えられている⁵。しかしながら、ナトリウム電流の不活性化の進行にともなって、再分極直後に記録される内向きゲーティング電流が減少する。この現象は不活性化を選択的にプロネースで除去すると見られない事からも不活性化を反映するものであることが確かめられた。そこで、チャンネルが不活性化されていると活性化ゲートが開状態から閉の状態に戻れないと考えている。この off ゲーティングチャージの減少にも脱分極後ある潜時が観測されていることから、不活性化過程が活性化後に起きていると考えられる。脱分極による不活性化の速度は脱分極にともなって加速されるが、これは活性化の過程がより速く進行するためであって、不活性化のゲート自身が電荷を持っていて、膜電位によって影響されたためではなく、見かけ上のものであると結論している⁵。Nonner⁴¹も同様に不活性化を活性化に依存させるモデルに依って不活性化の電位依存性を説明している。

酵素処理に依って、活性化過程やイオン選択性、チャンネルコンダクタンス、TTX 感受性には影響せず、不活性化のみが選択に抑制されることは⁴⁸、不活性化機序が活性化機構や電気伝導を支える構造と別に依るものであることを示している。しかし、活性化と不活性化の過程が同じチャンネル蛋白質分子上で進行するとき、相互に干渉があることが考えられる。

Ⅶ. ナトリウムチャンネルは均一な集団か

脱分極中の電流の消失過程が二つの指数関数の和でよく説明できること、不活性化の時間経過を二連パルスで測定すると、それが電位

範囲では脱分極中の不活性化の時間経過と異なっていること、開時間ヒストグラムが二つの成分に分けられる場合があること、これらの所見は一つの独立した不活性化変数を仮定する H-H モデルでは説明できない。このような H-H モデルと異なる所見は異なるグループのチャンネルを仮定すれば、それぞれのチャンネルが H-H モデルに従うとしても、矛盾することなく説明される。

性質を異にするナトリウムチャンネルの存在について第一にはっきりしていることは標本によってはシングルチャンネルコンダクタンスが明らかに異なる二つ以上のグループに分けられることがあげられる (neuroblastoma cells⁴⁰, skeletal muscle⁵⁸, cultured embryonic *Xenopus* myocytes¹⁶, cardiac tissue^{11,36,49})。しかしながら、普通より小さいコンダクタンスのチャンネルの記録される確率はきわめて小さい。従って、たとえこれらのチャンネルが異なるカイネテックスを持っていたとしても、全電流記録での H-H モデルと異なる性質を説明することは出来ない。更に、心筋ではこれらの二つのチャンネルの平均開時間や潜時分布に差が認められていない⁴⁹。Neuroblastoma 細胞で、単一チャンネルコンダクタンスの異なるグループが観察されている⁴⁰。この報告では普通の約 80% のコンダクタンスを持つチャンネルは比較的短い開時間を示し、速く不活性化するという。チャンネルを区別しないで開時間ヒストグラム、平均電流、delay time ヒストグラムを測定すると、いずれも二つの成分に分けられる。これらの所見に基づいて、チャンネルは二つの開状態を持つか、あるいは二種類のチャンネルが存在するとしている。20% の電流の大きさを明確に区別できているとすれば、これは非常に興味ある所見である。同じ標本でこの報告とは異なり、開時間ヒストグラムが単一指数関数であるとの報告があり⁴⁷、この点の解明が待たれる。

薬理的にチャンネルを区別する試みがある。例えば、Ten Eick 等⁵⁵は TTX 作用下の

潜時ヒストグラムをコントロールと比較して、短い潜時で見られるチャンネル電流が TTX により強く抑制されることを見た。この場合、コンダクタンスでは区別できないが、カイネティックスにおいて異なる性質を持つチャンネルが存在するということが考えられる。

Gilly と Armstrong²¹⁾はイカ巨大神経で再分極時のナトリウム末尾電流が通常観察されている速い成分に続いて、遅い成分があることを発見し、これが特殊なチャンネルの脱活性化を示していると考えた。活性化曲線は -70 mV で立ち上がり、 -40 mV 付近で飽和する。このように僅かの脱分極で選択的に活性化され、極めて、遅い脱活性化を示すチャンネルが全体の数%の割合で存在すると結論した。このいわゆる **threshold channel** は多くの組織に共通のものであろうか。Kunze 等の報告³⁶⁾では心筋には認められないという。

以上のような考え方とは別に一種類のチャンネルでも通常の不活性化機構と異なる行動をすることがあるとの考え方が提唱されている。普通に用いられているマルコフ式のモデルでは各速度定数は膜電位のみ関数であり、一定電位では一つの値しかとらないが、例えば、保持電位によって不活性化の速度が変化することを仮定すると単一チャンネル電流の変化がよく説明できるという⁴⁵⁾。開閉の速度定数が別の二次微分方程式に依って変化することを仮定するモデルが Hoyt³²⁾によって提唱されている。細胞内灌流下や、遊離パッチ膜での記録でナトリウムチャンネルの不活性化の電位依存性が変化することがよく知られているが、このような変化が生理的な条件下でも起こっているとも考えられる。

VIII. モデルについての考察

以上述べてきたように見解を異にする報告がなされているにも関わらず、多くの場合異なるグループ間で同じ実験条件による追試が為されていないことは驚くべきことである。しかしながら、現在までの知見を総合すると、活性化の過程が独立であるとする H-H モデルは極めて

広範囲の膜興奮性をよく説明する有用なものであるが、これはあくまで概略的なものであり、ナトリウムチャンネルの活性化と不活性化はお互いに依存するかという問いに対する答えは、明らかに YES である。但し、具体的に個々の実験結果について見ると、依然として研究者間に意見の相違があり、より完全な実験結果が報告されることが望ましい。

報告されている実験結果に差があるのは動物差や組織による差であることが考えられる。その場合ある動物のある組織では二種類のナトリウムチャンネルを含み、そのため一種類のチャンネルを仮定して、電流を解析すると H-H モデルとは大きく外れ、他の組織では一種類だけが含まれるため H-H モデルでよく近似されるということも考えられる。逆に、ほぼ似た性質のチャンネルが動物間に存在するが、カイネティックスが少しづつ異なるのかも知れない。このような問題は理想的な単一チャンネルの記録が出来れば、それぞれの性質を比較することに依って確かめることが出来る。実際にはチャンネルカイネティックスの変化や run-down の現象、ほとんどの記録では複数のチャンネルの活動が重なっていることなどから、実験的に困難があることが解決を遅れさせている原因になっている。

H-H モデルに代る新しいモデルが提唱されているので以下に考察する。Hoyt^{31,32)}は H-H モデルの m と h に代わって一つの変数 V_n でナトリウムコンダクタンス変化を表し、 V_n は二次微分方程式に依って変化するとした。この微分方程式は共通項を持つ二つの一次微分方程式で表すこともできる。即ち、お互いに依存した二つの機序を仮定している。このモデルでは定常状態不活性化曲線の測定結果が用いるテストパルスによって異なることや、不活性化の程度に依って活性化曲線が移動すること、不活性化に遅延が認められることなどをうまく説明できるという^{23,33)}。不活性化曲線の移動は必ずしも二つのお互いに依存した機序によるものではないとの反論もある³⁴⁾。

マルコフ型のモデルでまず開状態は一つかという問題がある。この点は単一チャンネルの開時間ヒストグラムが単一の指数関数で表すことが出来るか調べることに依って解る。ナトリウムチャンネルの記録ではほとんどの場合複数のチャンネルがパッチ膜に含まれ、一個のチャンネルからの記録は例外的である。そのため開時間ヒストグラムを測定するときには重なりのないものを選び測定する。長い開時間の電流ほど重なりに依って除外される確率が大きくなり、平均開時間は短く見積られる傾向がある。殆どの報告では、開時間ヒストグラムは単一指数関数的であり、開状態は一個であるとする仮定と矛盾しない。

Horn と Vandenberg³⁾ と Vandenberg と Horn⁵⁾ 単一ナトリウムチャンネル電流の解析で四種類のモデルの妥当性を検討している。

1) チャンネルは脱分極で一回開き、その閉じる速度で平均電流の不活性化が決定される、2) Aldrich ら²⁾の提唱したモデルでチャンネル活性化は遅く、逆に不活性化が速いとするもので平均電流の時間依存性の減少は活性化速度で決定される。これらのモデルは実際の記録で開状態が繰り返すので簡単に否定される。3) 平均電流の減少はチャンネルの burst 時間で決定されるか、4) burst 時間と活性化速度で決定される。3) と 4) の区別は微妙で、活性化と不活性化が独立か否かについての疑問については25種類のモデルについてコンピュータを駆使して、どれが最も適当であるかを検討しているが、明解な結論は得られないようである。但し、H-H 式のモデルでは説明できないことは明確に結論されている。また、開状態からの不活性化の速度は閉状態からの不活性化速度に比べて明らかに大きい値を得ている。

Hille²⁷⁾ はその総説で独立な活性化と不活性化の機序を仮定することには矛盾する知見が現在まで確かに積み重ねられていると述べ、もはや中途半端なものではなく、全ての現象を説明でき、分子構造に即したモデルを作る必要があることを強調している。

References

- 1) Adelman, W. J. Jr. & Palti, Y. (1969) The effects of external potassium and long duration voltage conditioning on the amplitude of sodium currents in the giant axon of the squid *Loligo Pealei*. *J. Gen. Physiol.*, **54**, 589-606
- 2) Aldrich, R. W., Corey, D. P. & Stevens, C. F. (1983) A reinterpretation of mammalian sodium channel gating based on single channel recording. *Nature* **306**, 436-441
- 3) Armstrong, C. M., Bezanilla, M. F. & Rojas, E. (1973) Destruction of sodium conductance inactivation in squid axons perfused with pronase. *J. Gen. Physiol.*, **62**, 375-391
- 4) Armstrong, C. M. & Bezanilla, F. (1974) Charge movement associated with the opening and closing of the activation gates of the Na channels. *J. Gen. Physiol.*, **63**, 533-552
- 5) Armstrong, C. M. & Bezanilla, F. (1977) Inactivation of the sodium channel II. Gating current experiments. *J. Gen. Physiol.*, **70**, 567-590
- 6) Bean, B. P. (1981) Sodium channel inactivation in the crayfish giant axon. Must channel open before inactivating? *Biophys. J.* **35**, 595-614
- 7) Bezanilla, F. & Armstrong, C. M. (1977) Inactivation of the sodium channel I. Sodium current Experiments. *J. Gen. Physiol.*, **70**, 549-566
- 8) Bodewei, R., Gering, S., Lemke, B., Rosenstraukh, L. V., Undrovinas, A. I. & Wollenberger, A. (1982) Characterization of the fast sodium current in isolated rat myocardial cells: simulation of the clamped membrane potential. *J. Physiol.*, **325**, 301-315
- 9) Brown, A. M., Lee, K. S. & Powell, T. (1981) Sodium current in single rat heart muscle cells. *J. Physiol.*, **318**, 479-500
- 10) Brodwick, M. S. & Eaton, D. C. (1978) Sodium channel inactivation in squid axon is removed by high internal pH or tyrosine specific reagents. *Science*, **200**, 1494-1496
- 11) Cachelin, A. B., De Peyer, J. E., Kokubun, S. & Reuter, H. (1983) Sodium channels in cultured cardiac cells. *J. Physiol.*, **340**, 389-401
- 12) Carmeliet, E. (1987) Slow inactivation of the sodium current in rabbit cardiac Purkinje fibres. *Pflugers Arch.*, **408**, 18-26
- 13) Chandler, W. K., Hodgkin, A. L. & Meves, H. (1965) The effect of changing the internal solution on sodium inactivation and related phenomena in giant axons. *J. Physiol.*, **180**, 821-836
- 14) Chandler, W. K. & Meves, H. (1970) Evidence for two types of sodium conductance in axons perfused with sodium fluoride solution. *J. Physiol.*, **211**, 653-678

- 15) Chiu, S. Y. (1976) Observations on sodium channel inactivation in frog nerve. *Biophys. J.*, **16**, 25a
- 16) DeCino, P. & Kidokoro, Y. (1985) Development and subsequent neural tube effects on the excitability of cultured *Xenopus* myocytes. *J. Neurosci.*, **5**, 1471-1482
- 17) Eaton, D. C., Brodwick, M. S., Oxford, G. S. & Rudy, B. (1978) Arginine specific reagents remove sodium channel inactivation. *Nature* **271**, 473-476
- 18) Ebihara, L. & Johnson, E. A. (1980) Fast sodium current in cardiac muscle. A quantitative description. *Biophys. J.*, **32**, 779-790
- 19) Gettes, L. S. & Reuter, H. (1974) Slow recovery from inactivation of inward currents in mammalian myocardial fibres. *J. Physiol.*, **240**, 703-724
- 20) Gillespie, J. I. & Meves, H. (1980) The time course of sodium inactivation in squid giant axons. *J. Physiol.*, **299**, 289-307
- 21) Gilly, Wm. F. & Armstrong, C. M. (1984) Threshold channels—a novel type of sodium channel in squid giant axon. *Nature* **309**, 448-450
- 22) Goldman, L. & Schauf, C. L. (1973) Quantitative description of sodium and potassium currents and computed action potentials in *Myxicola* giant axons. *J. Gen. Physiol.*, **61**, 361-384
- 23) Goldman, L. & Schauf, C. L. (1972) Inactivation of the sodium current in *Myxicola* giant axons. Evidence for coupling to the activation process. *J. Gen. Physiol.*, **59**, 659-675
- 24) Goldman, L. & Hahn, R. (1978) Initial conditions and the kinetics of the sodium conductance in *Myxicola* giant axons. II. Relaxation experiments. *J. Gen. Physiol.*, **72**, 879-898
- 25) Goldman, L. & Kenyon, J. L. (1982) Delays in inactivation development and activation kinetics in *Myxicola* giant axons. *J. Gen. Physiol.*, **80**, 83-172
- 26) Haas, H. G., Kern, R., Einwächter, H. M. & Tarr, N. (1971) Kinetics of Na inactivation in frog atria. *Pflügers Arch.*, **323**, 141-157
- 27) Hille, B. (1977) Ionic channels in excitable membranes Current problems and biophysical approaches. *Biophys. J.*, **22**, 283-294
- 28) Hodgkin, A. L. & Huxley, A. F. (1952) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.*, **117**, 500-544
- 29) Horn, R., Patlak, J. & Stevens, C. F. (1981) Sodium channels need not open before they inactivate. *Nature*, **291**, 426-427
- 30) Horn, R. & Vandenberg, C. A. (1984) Statistical properties of single sodium channels. *J. Gen. Physiol.*, **84**, 505-534
- 31) Hoyt, R. C. (1965) The squid giant axon: mathematical models. *Biophys. J.*, **3**, 399-431
- 32) Hoyt, R. C. (1968) Sodium inactivation in nerve fibers. *Biophys. J.*, **8**, 1074-1079
- 33) Hoyt, R. C. & Adelman, Jr, W. J. (1970) Sodium inactivation Experimental test of two models. *Biophys. J.*, **10**, 610-617
- 34) Jakobsson, E. & Moor, L. E. (1971) On making models of the sodium inactivation of axonal membranes. *Biophys. J.*, **11**, 385-386
- 35) Kniffki, K. D., Siemen, D. & Vogel, W. (1981) Development of sodium permeability inactivation in nodal membranes. *J. Physiol.*, **313**, 37-48
- 36) Kunze, D. L., Lagerda, A. E., Wilson, D. L. & Brown, A. M. (1985) Cardiac Na currents and the inactivating, reopening, and waiting properties of single cardiac Na channels. *J. Gen. Physiol.*, **86**, 691-719
- 37) Makielski, J. C., Sheets, M. F., Hanck, D. A., January, C. T. & Fozzard, H. A. (1987) Sodium current in voltage clamped internally perfused canine cardiac Purkinje cells. *Biophys. J.*, **52**, 1-11
- 38) Meves, H. & Vogel, W. (1977) Inactivation of the asymmetrical displacement current in giant axons of *Loligo* Forbesi. *J. Physiol.*, **267**, 377-393
- 39) Mitsuiye, T. & Noma, A. (1987) Inactivation of the guinea-pig cardiac Na channel as examined by the new oil-gap method. *J. Physiol.*, (Abstract, in press)
- 40) Nagy, K., Kiss, T. & Hof, D. (1983) Single Na channels in mouse neuroblastoma cell membrane Indications for two open states. *Pflügers Arch.*, **399**, 302-308
- 41) Nonner, W. (1980) Relations between the inactivation of sodium channels and the immobilization of gating charge in frog myelinated nerve. *J. Physiol.*, **299**, 573-603
- 42) Oxford, G. S. & Pooler, J. P. (1975) Selective modification of sodium channel gating in lobster axons by 2, 4, 6-trinitrophenol. *J. Gen. Physiol.*, **66**, 765-779
- 43) Oxford, G. S., Wu, C. & Narahashi, T. (1978) Removal of sodium channel inactivation in squid giant axons by N-bromoacetamide. *J. Gen. Physiol.*, **71**, 227-247
- 44) Patlak, J. & Horn, R. (1982) Effect of N-bromoacetamide on single sodium channel currents in excised membrane patches. *J. Gen. Physiol.*, **79**, 333-351
- 45) Patlak, J. B. & Ortiz, M. (1985) Slow currents through single sodium channels of the adult

- rat heart. *J. Gen. Physiol.*, **86**, 89-104
- 46) Peganov, E. M., Khodorov, B. I. & Shishkova, L. D. (1973) Slow sodium inactivation in the Ranvier node membrane: role of external potassium. *Bull. Exp. Biol. Med.*, **76**, 15
- 47) Quandt, F. N. & Narahashi, T. (1982) Modification of single Na⁺ channels by batrachotoxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 197-205
- 48) Rojas, E. & Rudy, B. (1976) Destruction of the sodium conductance inactivation by a specific protease in perfused nerve fibres from *Loligo*. *J. Physiol.*, **262**, 501-531
- 49) Scanley, B. E. & Fozzard, H. A. (1987) Low conductance sodium channels in canine cardiac Purkinje cells. *Biophys. J.*, **52**, 489-495
- 50) Schauf, C. L., Pencek, T. L. & Davis, F. A. (1976) Slow sodium inactivation in *Myxicola* axons: evidence for a second inactive state. *Biophys. J.*, **16**, 771-778
- 51) Schauf, C. L. & Davis, F. A. (1975) Further studies of activation-inactivation coupling in *Myxicola* axons: insensitivity to changes in calcium concentration. *Biophys. J.*, **15**, 1111
- 52) Sevcik, K. C. & Narahashi, T. (1975) Effects of proteolytic enzymes on ionic conductance of squid axon. *J. Membr. Biol.*, **24**, 329-339
- 53) Sigworth, F. J. (1981) Covariance of nonstationary sodium current fluctuations at the node of Ranvier. *Biophys. J.*, **34**, 111-113
- 54) Swenson, Jr, R. P. (1980) Gating charge immobilization and sodium current inactivation in internally perfused crayfish axons. *Nature*, **287**, 644-645
- 55) Ten Eick, R., Yeh, J. & Matsuki, N. (1984) Two types of voltage dependent Na channels suggested by differential sensitivity of single channels to tetrodotoxin. *Biophys. J.*, **45**, 70-73
- 56) Vandenberg, C. A. & Horn, R. (1984) Inactivation viewed through single sodium channels. *J. Gen. Physiol.*, **84**, 535-564
- 57) Wang, G. K., Brodwick, M. S. & Eaton, D. C. (1985) Removal of sodium channel inactivation in squid axon by the oxidant chloramine-T. *J. Gen. Physiol.*, **86**, 289-302
- 58) Weiss, R. E. & Horn, R. (1986) Functional differences between two classes of sodium channels in developing rat skeletal muscle. *Science*, **233**, 361-364
- 59) Zilberter, Y. I., Timin, E. N., Bendukidze, Z. A. & Burnashev, N. A. (1982) Patch-voltage clamp method for measuring fast inward current in single rat heart muscle cells. *Pflügers Arch.*, **394**, 150-155

マウス骨格筋ミオグロビンの単離とその諸特性について

中 谷 昭

(奈良県立医科大学第二生理学教室)

Isolation and Properties of Myoglobin from Murine Skeletal Muscle.

Akira NAKATANI (Second Department of Physiology, Nara Medical University, Kashihara, Nara 634)

Myoglobin (Mb) was isolated from skeletal muscle of JCL-ICR mice by heat denaturation-gel filtration combined with ion exchange chromatography or chromatofocusing by which isoelectric point of the main component was estimated as 7.63 ± 0.09 (20°C). The Mb was homogeneous by gel electrophoretic and ultracentrifugal analysis. The molecular weight by sedimentation equilibrium was 1.80×10^4 and essentially identical with the values by the iron analysis (1.82×10^4) and amino acid composition (1.78×10^4) in which one residue of cysteine was found per molecule. The spectroscopic properties of deoxy-, oxy-, carboxy- and ferri-derivatives of the protein were determined in ultraviolet, Soret and visible regions. The pK' of acid-alkaline transition of the ferri-form was estimated as 8.57 ± 0.30 (30°C) from the pH-dependent spectral changes. The oxygen equilibrium studies revealed complete absence of such allosteric properties as heme-heme interaction, anion effect and Bohr effect. Oxygen tension for the half-oxygenation (P_{50}) was 0.69 ± 0.06 Torr (20°C) and its temperature-dependent change gave the ΔH° of -14.1 kcal/mole.

key words : Myoglobin ; Mouse ; Oxygen equilibrium ; Absorption spectra

I. 緒 言

骨格筋にヘム蛋白の1つであるミオグロビン (Mb) の存在することは、かなり古くから知られている。また Mb の構造、機能については数多くの研究がなされ、その生理機能としては“酸素貯蔵機能”³³⁾、“酸素の促進拡散機能 (facilitated diffusion)”³⁴⁾やある種の“触媒機能”³⁵⁾、あるいはごく最近では“筋細胞内での O_2 均等化機能”¹¹⁾等があげられているものの、なお、不明の部分も多い。しかし、Mb が主に有酸素的代謝を行ういわゆる slow twitch fiber に多く含まれること²⁶⁾や、持久的トレーニングによりその含量が増大することから^{13, 14)}、特に持久的運動時における筋組織への酸素の供給に関して重要な関わりをもつことはまちがいない。従って、運動トレーニングが骨格筋 Mb におよぼす影響について検討することは、トレーニング効果の生理学的、生化学的機序の解明に資するだけでなく、Mb の機能を解明する上でも意義

あることと考えられる。

さきに教室の河瀬は、イヌ骨格筋より Mb を単離、純化した後その諸特性について検討し¹⁹⁾、その結果に基づいてさらにイヌのいろいろな骨格筋の Mb 含量を測定し、それがチトクローム C 含量と非常に高い相関のあることを報告した²⁰⁾。ところで、トレーニング効果に関する動物実験においては、対象としてげっ歯類の小動物 (ラットおよびマウス) がよく用いられるが、これら動物の骨格筋 Mb に関する系統的研究はこれまで全くなされていない。

そこで、今回、特にマウス骨格筋 Mb に関してトレーニング効果を検討するための基礎実験として、まずマウス骨格筋 Mb を単離、純化する方法を確立した後、純化 Mb についてその特性を検討した。

II. 実験方法

1. Mb の単離と純化 : Mb の単離、純化に際しては、特に筋抽出液中に混在するヘモグロビン (Hb) が問題となる。これを分別、除去するためには、従来の塩析法²²⁾にかわり、熱変性

とゲル濾過クロマトグラフィーを用いる Büning らの方法⁵⁾にさらにイオン交換クロマト法を加えた河瀬の方法¹⁹⁾をほぼそのまま用いた。ただし、今回はイオン交換クロマト法のほか、クロマトフォーカシングも用いて満足すべき結果を得た。

Fig.1 は操作の要点をフロー・チャートで示したものである。すなわち、JCL-ICR系マウスをエーテル麻酔下瀉血致死させた後、骨格筋を摘出し冷凍保存(-20℃)する(1匹当たり約2g)。筋重量300gに対して600mlの氷冷-CO飽和

脱イオン水を加えミキサーを用い均等化し、12,000 rev./min. で15分間遠沈、その上清を襪濾紙で濾過する。沈渣についてはさらに氷冷-CO飽和脱イオン水(600ml)で再度均等化遠沈し、同じく上清を襪濾紙で濾過し濾液を初回濾液と合する。集めた上清を振盪下50℃で10分間加熱し、氷水中に冷却してから遠沈する。その上清を襪濾紙で濾過した後、限外濾過器(東洋科学産業, UHP-90)により約20mlに濃縮する。ついで0.05M Tris-HCl緩衝液(pH7.95)に対し12時間透析した後さらに遠沈し、前記緩

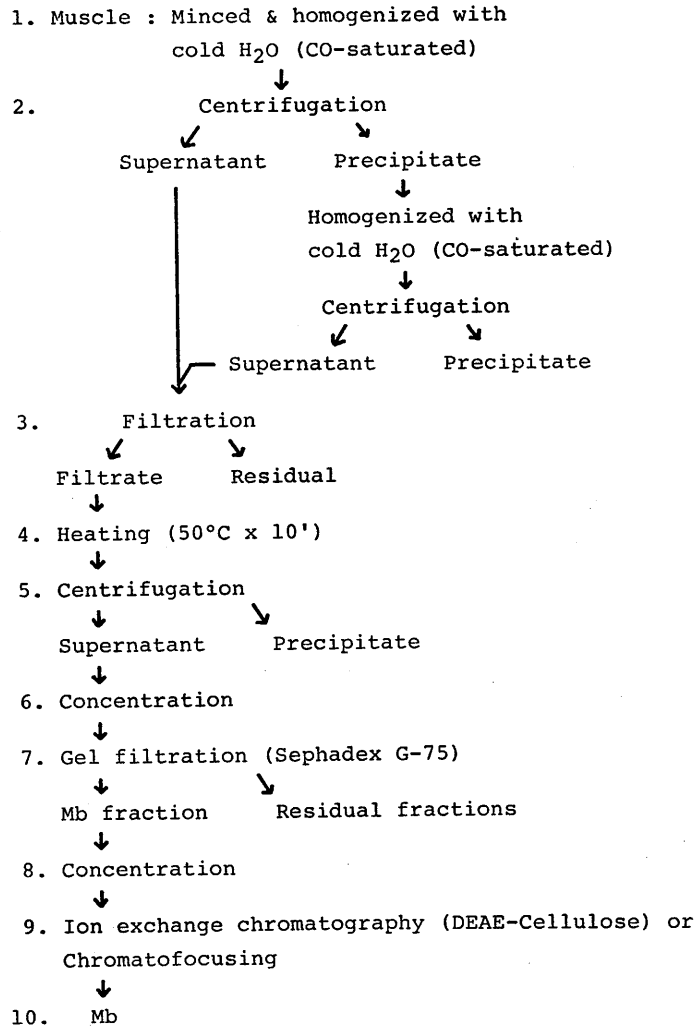


Fig. 1. Procedure for isolation and purification of the myoglobin from murine skeletal muscles.

衝液と平衡させた Sephadex G-75 (4×90 cm) によるゲル濾過を行う。溶出は0.05 M NaCl および 0.001 M EDTA-Na₂ を含む 0.05 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.95) を用い、毎分 0.5 ml の流量で行い、各画分 (3 ml) について 540 nm および 280 nm での吸光度を測定してクロマトグラムを作成した。ついで Mb に相当する画分を集め、ピリジン・無水酢酸処理により孔径を小さくさせたセルローズ・チューブ (Visking Co., 8/32 チューブ) を 30 分間ピリジン中に浸漬、さらにピリジン/無水酢酸混液 (1:1) 中に 4 時間おいた後、脱イオン水で十分洗滌したもの) による限外濾過法で濃縮し、さらにイオン交換カラムクロマトまたはクロマトフォーカシング法を用い Mb の純化を行った。

まず、イオン交換カラムクロマトについては、濃縮した Mb 画分を 0.05 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 9.0) に対し透析し、遠沈後、同上緩衝液と平衡した DEAE セルロース・カラム (1×30 cm) を用い、0.05 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 9.0, 500 ml) と 0.04 M NaCl を含む同緩衝液の間に形成される塩濃度勾配により溶出した。各溶出画分 (3 ml) は 540 nm および 280 nm での吸光度を測定し、これに基づいてクロマトグラムを作成した。また、NaCl 濃度は電気伝導度計 (Radiometer; Type CDM 2 d) を用い電気伝導度を測定することにより求めた。

次にクロマトフォーカシングについては、試料液 (約 100 mg/2 ml) を 0.025 M Tris-酢酸緩衝液 (pH 8.3) に透析、遠沈後、同緩衝液で平衡した担体ゲル Pharmacia-PBE 94 カラム (1×30 cm) に添加し、Polybuffer 96-酢酸 (Pharmacia; pH 6.0) により溶出した。溶出画分 (1 ml) については、同じく 540 nm および 280 nm での吸光度を測定しクロマトグラムを作成した。また同時に各画分の pH も測定した。

このようにして得た純化 Mb は、上と同様にピリジン・無水酢酸処理したビスキングチューブを用いる限外濾過法により約 2 ml まで濃縮、CO 型にして氷冷保存した。

2. **デンブリン・ゲル電気泳動**: Smithies の方法³¹⁾ にほぼ準じた。緩衝系としては 0.067 M Tris-0.005 M クエン酸-0.0023 M EDTA 緩衝液 (pH 8.6) を用い、300 V, 3 時間 (4℃) 泳動を行った。染色はスライスしたゲルにつき、Amido Black 10 B により行った。

3. **超遠心分析**: 分析用超遠心機 (Hitachi 282) を用い、沈降速度法および沈降平衡法により行った (20℃)。沈降速度法では 60,000 rev./min. 下 Schlieren 光学法により得られる沈降像を経時的に写真撮影し (シャープ・カット・フィルター: 保谷ガラス R 60 使用), Nikon Profile Projector (モデル 6 C) を用いて常法により $S_{20,w}$ 値を算出した。また、沈降平衡法には自記吸収装置 (Hitachi 282-0060, 波長 540 nm) を用い、得られた結果から下式により重量平均分子量を算出した。

$$M_w = \frac{2RT}{(1-\bar{v}\rho)\omega^2} \cdot \frac{d \ln C}{dr^2} \dots\dots\dots(1)$$

ただし、 M_w ; 重量平均分子量, \bar{v} ; Mb の偏比容 (0.748), ρ ; 溶媒の密度, ω ; 角速度, C ; 試料濃度 (540 nm での吸光度は C に比例), r ; 回転中心からの距離 (cm), R ; ガス常数, T ; 測定時の温度 (°K)。

なお、測定は 13,000 rev./min. (20℃) 下に行い、この場合平衡到達には約 20 時間を要した。

4. **最小分子量の測定**: Sephadex G-25 によるゲル濾過および脱イオン水に対する透析により、純化 Mb 溶液から完全に脱塩を行った後、Cameron の方法⁶⁾ により鉄含量 (Fe) の測定を行った。同時に同一試料 0.5 ml について 110℃ 下一定重量となるまで乾燥し、乾燥重量 (DW) を求めた。以上の測定結果に基づき、Mb 最小分子量 (M) を下式により算出した。

$$M = \frac{55.85}{Fe} \cdot DW \dots\dots\dots(2)$$

5. **HPLC-ペプチドマップ法**: 酸-アセトン法により作成したマウス・グロビンをアミノエチル化した後、0.2 M NH₄HCO₃ 緩衝液 (pH 8.0) 中でトリプシン消化した (37℃, 5 h)。トリプシン (TPCK-Trypsin, Cooper Biomed-

cal) は最終対グロビン重量比 2/100 で用い、pH 4.7 として反応を終了させた。反応終了液を高速遠沈して可溶分 (tryptic peptides) と不溶分 (tryptic core) に分け、両画分を凍結乾燥した。ついで可溶分はそのまま HPLC のスタート溶媒に溶かし (1~2mg/0.5ml), Millipore フィルター (SJHV 004 NS) で汙過した後、試料 100 μ l につき、逆相カラム (Cosmosil 5C 18: 4.6 \times 150 mm, 半井化学)-島津高速液体クロマトグラフ LC-4A により、ペプチド分離を行った。溶出には 0.1%-TFA/アセトニトリル系溶媒の 3 段階直線勾配を用い、流量は 1 ml/min. とした。溶出ペプチドは、紫外吸収 (220 nm) の連続記録を参照しつつ用分取し、各画分をプールした後、それぞれ凍結乾燥した。また上記の不溶分 (tryptic core) は、5% 酢酸中で 25 $^{\circ}$ C, 重量比 1/100 のペプシン (Sigma) で 1 h 消化し、同様にペプチド分離した。各画分のアミノ酸組成は、後述の自動分析法により測定した。

6. アミノ酸分析: 脱塩 Mb から塩酸-アセトン法 (-20 $^{\circ}$ C)³⁰⁾ によって得たグロビンをさらにアミノエチル化し²⁵⁾, 脱気封管中で 6 N-HCl による加水分解後 (110 $^{\circ}$ C), アミノ酸分析計 (Hitachi KLA-3 B または 835) を用い分析した。加水分解時間を 24 h, 48 h, 72 h とした 3 試料についての分析結果を平均し、また Thr, Ser については 0 h への外挿値を求めた。Trp は Spande らの分光学的方法³²⁾ により別途測定した。

7. O₂ 平衡: Mb は CO 型として氷冷保存し、なるべく速やかに使用するようにしたが、保存中自酸化により Ferri 型化するため、O₂ 平衡測定に先立って以下の手法により Mb を Oxy 型とした²¹⁾。Mb 溶液 0.5 ml を十分 CO で飽和した後、これに最終 10 モル過量の Na₂S₂O₄ (CO 飽和 0.001 M NaOH 0.1 ml に溶解) を加え混合する。混液を直ちに CO 飽和 0.1 M 燐酸カリウム緩衝液または 0.1 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 6.6~7.6) と平衡させておいた Sephadex G 25-fine (Pharmacia) カラム (1 \times

40 cm) に加え、同緩衝液で溶出する。CO 型となった Mb 溶液はさらに 30 分間蛍光灯の照射下 O₂ ガス流に曝露し (0 $^{\circ}$ C), 得られた Oxy Mb につき、教室常用の分光学的方法¹⁰⁾ により O₂ 平衡曲線を測定した。

分光学的測定には島津光電分光光度計 QV-50, Union 高感度自記分光光度計 SM-401 を使用した。

III. 結 果

1. Mb の単離, 純化とその均一性について
マウス Mb の単離, 純化に用いた操作手順を Fig. 1 に示した。Fig. 2-a はステップ 7 のゲル汙過クロマトグラムを示したもので、ピーク 1 および 2 は変性~未変性 Hb および非ヘム蛋白より成り、ピーク 3 が Mb 画分である。またピーク 1 の可視部破線で示した部分は、室温下測定に際し急速に濁りを生じて測定不可能となった画分である。Fig. 2-b は上記 Mb 画分 3 をさらに DEAE セルロースを担体とするイオン交換クロマトにかけた結果で、3 つのピークがみられた。Fig. 2-c は同上 Mb 画分の PBE 94 (Pharmacia)-クロマトフォーカシングによる分離結果である。DEAE セルロースによるクロマト時と同様 3 つのピークがみられた。また同時測定した pH (20 $^{\circ}$ C) より求めた各成分の等電点は、第 1 のピークが 7.63 ± 0.09 (n=7), 第 2 のピークが 7.49 ± 0.07 (n=7), 第 3 のピークが 7.23 ± 0.14 (n=7) であった。DEAE セルロースによるクロマト, クロマトフォーカシングのいずれにおいても初回のクロマトで電気泳動上単一のバンドは得られず、それぞれピーク 1 画分について再クロマトを行った。

Fig. 3-a はイオン交換クロマト, Fig. 3-b はクロマトフォーカシングによる各ピークのデンブングル電気泳動である。いずれも再クロマトによりピーク 1 は単一のバンドとなり、電気泳動上均質なマウス Mb の得られていることがわかる。なお、クロマトにおける上記不均質成分 (特にピーク 2) の存在比は実験により必ずしも一定せず、特にアルカリ性条件下においた時間

に比例して増加する傾向にあった。また、そのクロマト～泳動上の挙動の差にもかかわらず、アミノ酸組成については主成分（ピーク1）のそれとほぼ一致した。以下の諸実験では、電気

泳動により均一であることを確認したイオン交換クロマトまたはクロマトフォーカシングの第1画分を実験材料として用いた。

このようにして得たMb試料を、沈降速度法

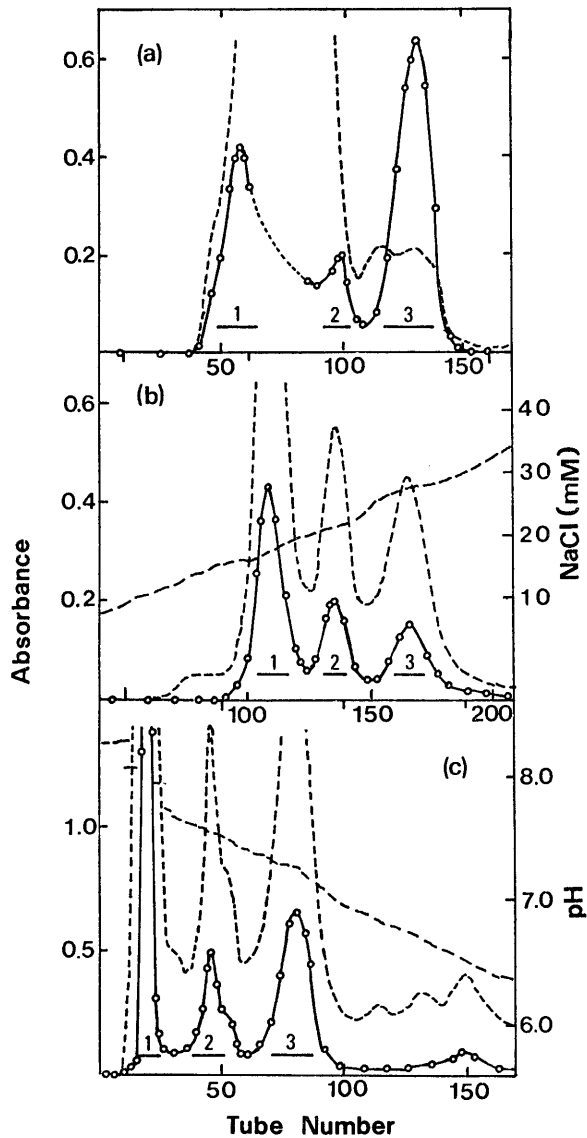


Fig. 2. (a) Gel filtration profile of the heat-treated extract from murine skeletal muscle. 0.05 M Tris-0.05 M NaCl-0.001 M EDTA (pH 7.95), Sephadex G-75 (4×90 cm), 4°C. Peak 3 represents the myoglobin fraction. (b) Chromatographic purification of the myoglobin fraction (peak 3) on DEAE-Cellulose (1×30 cm). Elution by NaCl gradient (-----) from 0 to 40 mM in 0.05 M Tris-HCl buffer. Peak 1 constitutes the major myoglobin component. (c) Chromatofocusing purification of the myoglobin fraction (peak 3) on Pharmacia PBE 94 (1×30 cm). Elution by pH gradient (-----) from 8.3 to 6.0 in Polybuffer 96-acetate. Peak 1 constitutes the major myoglobin component.

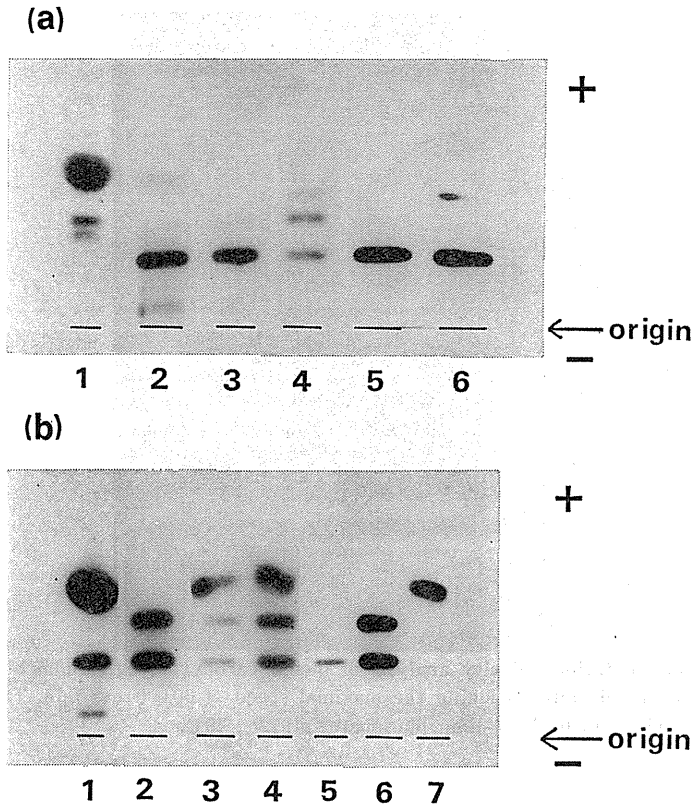


Fig. 3. Mouse myoglobin as examined by starch gel electrophoresis. Tris-EDTA-Borate buffer system (pH 8.6), Amido Black 10 B stain. Results with the myoglobins purified by ion exchange chromatography (a) and by chromatofocusing (b). 1; peak 3 of the gel filtration (Fig. 3-a), 2, 3 and 4; peak 1, 2 and 3 of the first chromatography or chromatofocusing, 5, 6, and 7; peak 1, 2 and 3 of the rechromatography or rechromatofocusing.

により超遠心分析した結果を Fig. 4 に示した。Schlieren 沈降像は左右対称の単一ピークを示し、標品が分子量に関して均一であることは明らかである。またこの場合の沈降速度定数 $S_{20,w}^0$ を計算してみると、1.95S という値が得られた。

2. 分子量

完全に脱塩した Mb 試料について、Cameron の方法により求めた鉄含量および乾燥重量から式(2)を用い最小分子量を計算すると、18,200 という結果が得られた。Fig. 5 は超遠心分析 (沈降平衡法) において、沈降平衡に達した時点での液相内各点における Mb 濃度 (540 nm での吸光度) の対数を、回転中心からの距離の自乗に対してプロットしたもので、両者間には直線

関係がみられた。この直線の勾配から式(1)により算出した重量平均分子量は 18,000 となり、さきに得た最小分子量と実験誤差の範囲内でよく一致することから、Mb は単量体として存在していることが結論できる。

3. アミノ酸組成と1次構造

Table 1 に今回測定したマウス Mb のアミノ酸組成を、既報のイヌ¹³⁾、ウマ⁸⁾、マッコウクジラ⁹⁾およびマウス Mb についてごく最近えられた結果¹⁴⁾と比較した。マウス Mb のアミノ酸組成は他種 Mb のアミノ酸組成と全体としてよく類似しているが、個々のアミノ酸についてみると多少のちがいがみられる。特に、イヌ、ウマ、マッコウクジラには全く存在しない Cys が、マウス Mb に 1 残基存在することが注目さ

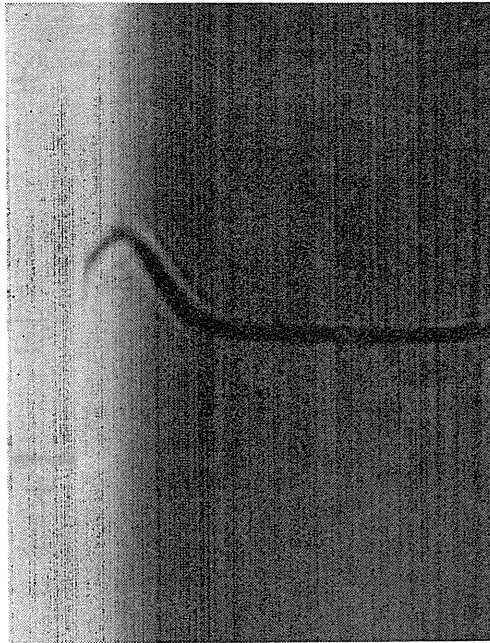


Fig. 4. Sedimentation velocity analysis of mouse carboxy-myoglobin. Schlieren diagram taken at 45 min after reaching the maximal speed of 60,000 revs/min. The protein content was 0.18% in 0.1 M sodium phosphate (pH 7.0), 20°C.

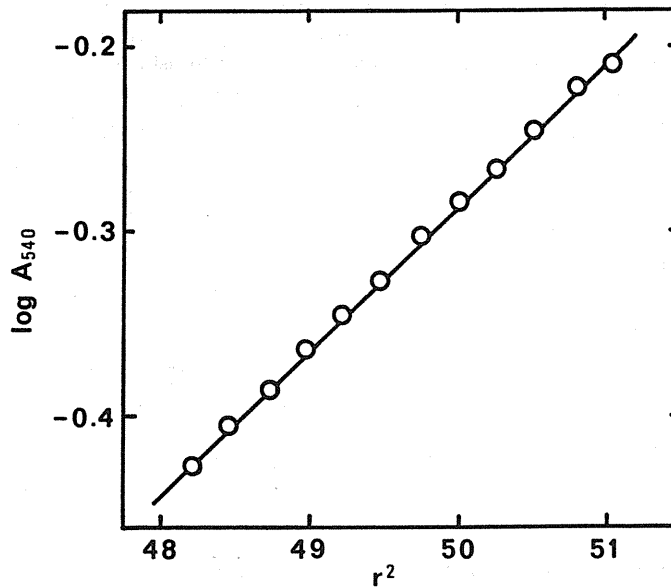


Fig. 5. Sedimentation equilibria of mouse carboxymyoglobin. Myoglobin concentration; $10 \mu\text{M}$ in 0.1 M sodium phosphate (pH 7.0), 20°C. Data was taken from the automatic absorbance scanning at 540 nm obtained after 20 h at the 13,000 revs/min. r ; distance in cm from the axis of rotation.

Table 1. Amino acid composition of mouse myoglobin as compared with those of canine, horse and sperm whale myoglobins. Note the same result by the present author and by Harris et al. (1985).

	Species					
	Mouse ¹⁾			Dog ²⁾	Horse ³⁾	Sperm Whale ⁴⁾
	a	b	c			
Ala	13	13	13	12	15	17
Arg	2	2	2	2	2	4
Asx	11	12	12	15	10	8
Cys	1	1	1	—	—	—
Glx	21	20	20	19	19	19
Gly	16	15	15	13	15	11
His	7	7	7	10	11	12
Ile	7	9	9	7	9	9
Leu	19	18	18	19	17	18
Lys	21	20	20	21	19	19
Met	2	2	2	2	2	2
Phe	7	7	7	7	7	6
Pro	2	3	3	3	3	4
Ser	7	7	7	6	5	6
Thr	6	6	6	7	7	5
Trp	2	2	2	2	2	2
Tyr	2	2	2	2	2	3
Val	7	7	7	6	7	8
Total	153	153	153	153	153	153

1-a) ; present result on whole globin, 1-b) ; present result based on HPLC-peptide mapping, 1-c) ; Harris et al. (1985), 2) ; Kawase (1979), 3) ; Dautrevaux et al. (1969), 4) ; Edmundson (1965)

れる。なお、別途分光学的方法³²⁾により求めた Trp は 1 分子あたり 2 個であった。

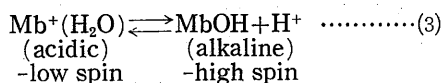
Fig. 6 にトリプシン消化可溶分についてのマウス・グロビン HPLC-ペプチドマップを示した。ここで分離した各ペプチドのアミノ酸組成、および不溶分 (tryptic core) をさらにペプシン消化、HPLC 分離してえた各ペプチドのアミノ酸組成からホモロジー法により推定したマウス・グロビンの 1 次構造は、最近、Harris ら¹⁴⁾ によって報告された結果と完全に一致した (Table 1)。

4. 分光学的特性

Fig. 7-a は可視域, b は Soret 域, c は紫外域における deoxy-, oxy-, carboxy- 型マウス

Mb の吸収スペクトルである。各吸収極大の位置ならびにミリモル吸光係数 (ϵ mM) は、これまでに報告されている他種 Mb の値^{1,19)} とほぼ一致するものであった。

Fig. 8 は Ferri 型についてのいろいろな pH ($\mu=0.1$) における可視域スペクトルである。いわゆる acid-alkaline transition がみられ、また 496, 525, 628, 680 nm に等吸収点 (isobestic point) がみられた。ここにみるスペクトル変化は、次の平衡反応に対応すると考えられる^{4,12)}。



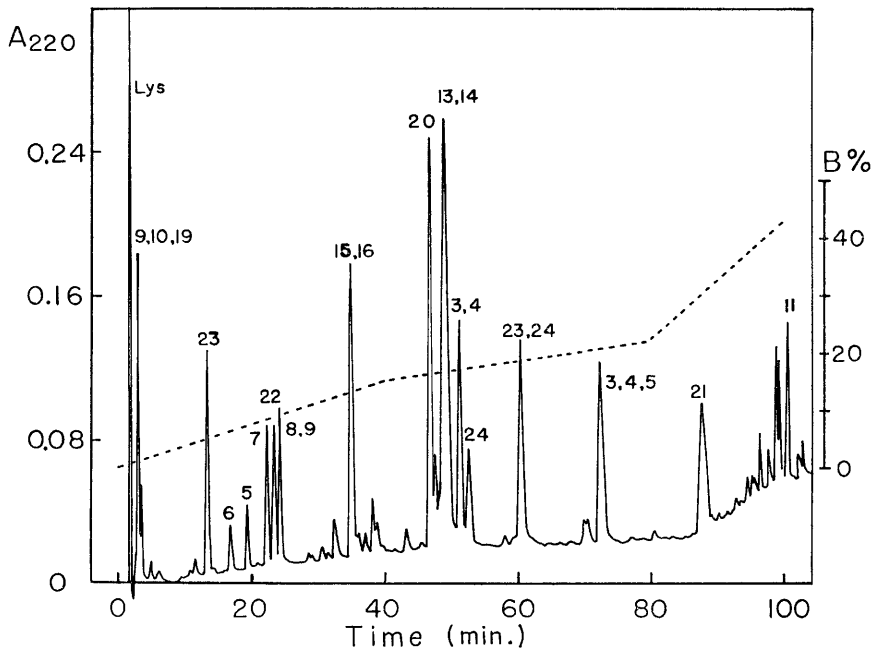


Fig. 6. Reversed-phase HPLC-mapping of tryptic peptides from murine myoglobin. Column : Nakarai Cosmosil 5 C 18 (4.6×150 mm). Solvent system, A : 0.1% TFA (pH 2.75) and B : 0.1% TFA in 90% CH₃CN (pH 2.75). Elution was performed by a three-step linear gradient between the solvents A and B (-----). Flow rate : 1.0 ml/min. Figures attached to the peaks were the tryptic peptide numbers which were identified by their amino acid analyses. Peptide map of the peptic digests of the "tryptic core" was omitted.

従って、pH 変化に伴うスペクトル変化から、下式によって当該平衡反応のみかけの pK (pK') を求めることができる。

$$pK' = pH + \log \frac{[\text{acidic form}]}{[\text{alkaline form}]}$$

今回の測定結果 (30℃) のうち pH 7~10 域での吸光度変化 (582 nm) から pK' を算出すると、 8.57 ± 0.30 (n=9) という値が得られた。Fig. 9 の実線はこのようにして得た pK' から計算した理論滴定曲線で、実測点とよく一致している。

5. O₂ 平衡機能

Fig. 10 は水素イオンの O₂ 平衡機能に対する効果 (Bohr 効果) を、0.1 M 磷酸緩衝液 (20℃) 下にみた結果を Hill プロット¹⁵⁾ により示したものである。pH が 6.6, 7.0, 7.6 のいずれのプロットも同一直線上にあり、Bohr 効果がみられなかった。また Hill 常数 (n) の値も 1 (0.93 ± 0.08) となり、いわゆるヘム間相互作用

(heme-heme interaction) の欠損を示している。次いで塩 (アニオン) 効果 (NaCl) を、水素イオンの場合と同様 Hill プロットで示したのが Fig. 11 である。0.05 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.6) 下、NaCl 濃度 0, 0.2, 0.6 および 0.8 M についてみたもので、いずれも上記の結果と同様に同一直線上にプロットでき、アニオン効果は認められなかった。また、Hill 常数 (n) も 1 (0.99 ± 0.06) でヘム間相互作用はみられない。したがってホモトロピック、ヘテロトロピック何れのアロステリック特性もみられないことになる。また水素イオンおよびアニオン効果について得た結果から求めた P₅₀ 値は、 0.69 ± 0.06 Torr (20℃) であった。次に Mb-O₂ 平衡に対する温度変化の影響を 0.1 M 磷酸緩衝液 (20℃で pH 7.00) 下、10°, 15°, 20°, 25°, および 30℃において検討した。Fig. 12 に示すように、Hill プロットの結果は水素イオンやアニオン効果と

同様、いずれも勾配 1 (0.99 ± 0.06) の直線となり、ヘム間相互作用の欠損を示した。しかし、曲線の位置に関しては、温度上昇に伴い右偏すなわち P_{50} 値の増大が認められた。Fig. 13 に

温度効果の測定結果を van't Hoff プロット (P_{50} 値の対数を絶対温度の逆数に対してプロット) により示した。これより下に示す van't Hoff の反応定容式を用い、Mb-O₂ 平衡の ΔH° を算出すると、 -14.1 kcal/mole という値が得られた。

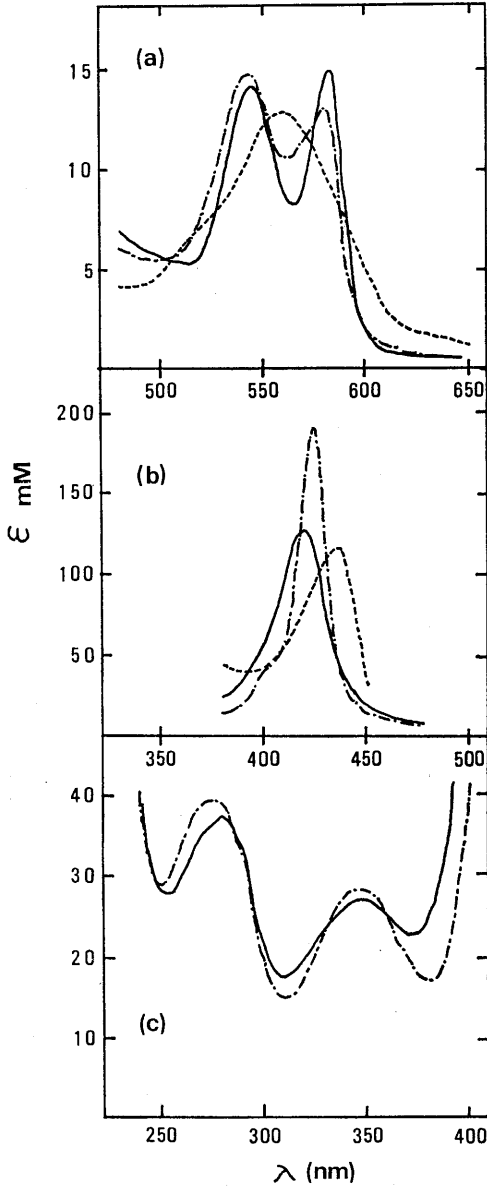


Fig. 7. Absorption spectra of ferrous derivatives of mouse myoglobin in (a) visible, (b) Soret and (c) ultraviolet regions. 0.1 M potassium-phosphate (pH 7.0), 25°C. —; oxy, ---; carboxy, - - - -; deoxy-myoglobin. Ordinate; milli-molar absorption coefficient.

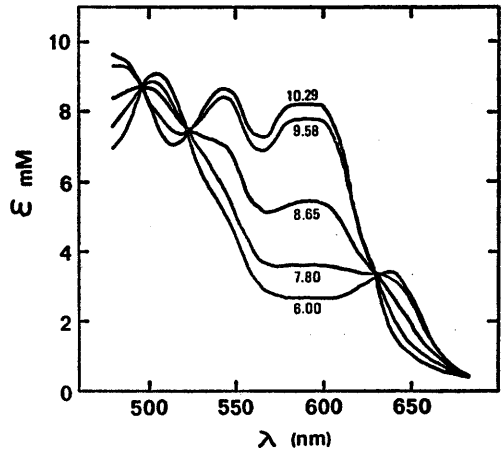


Fig. 8. Absorption spectra of mouse ferric myoglobin at different pH's. Ionic strength; 0.1, 25°C. Attached figures were pH at which the spectra were measured.

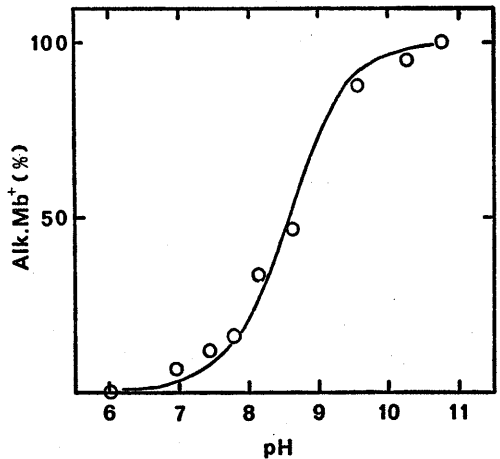


Fig. 9. Acid to alkaline transition curve of mouse ferric myoglobin (25°C). Ordinate; fraction of the alkaline form of the myoglobin calculated from the pH-dependent absorbance change at 582 nm (cf. Fig. 8). Solid line was the theoretical curve calculated by assuming $pK' = 8.57$.

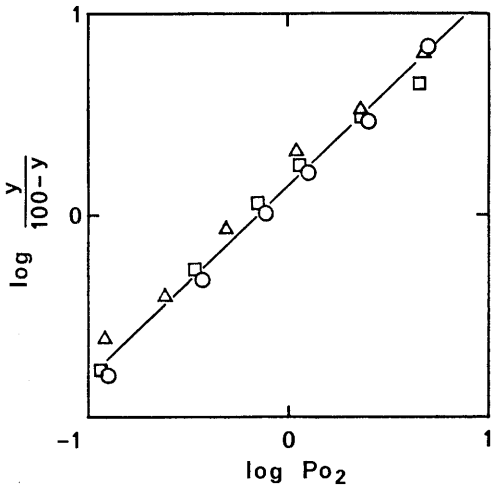


Fig. 10. Effect of H⁺ ion on the oxygen equilibrium curves of mouse myoglobin. 0.1 M phosphate, 20°C. pH ; 6.6 (○), 7.0 (△) and 7.6 (□).

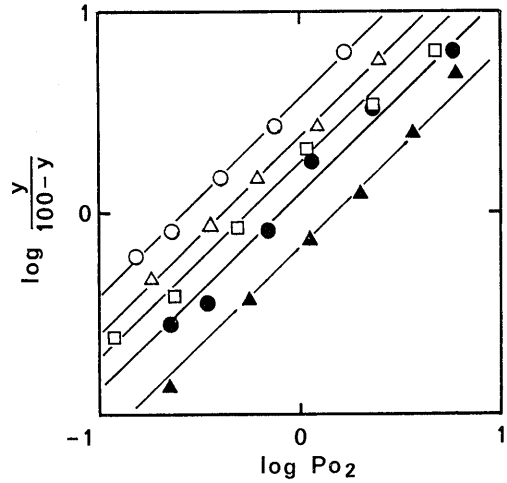


Fig. 12. Effect of temperature on the oxygen equilibrium of mouse myoglobin. 0.1 M phosphate (pH 7.0). Temperature ; 10°C (○), 15°C (△), 20°C (□), 25°C (●) and 30°C (▲).

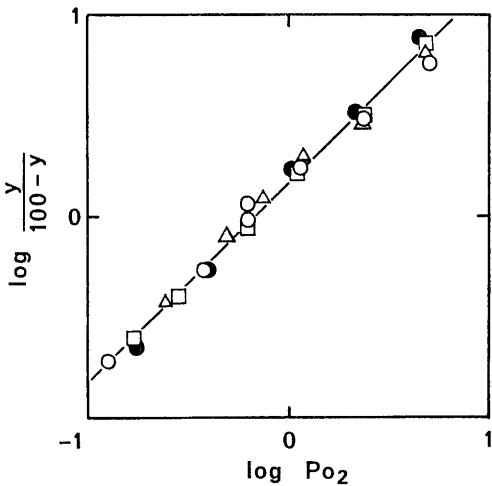


Fig. 11. Effect of salt on the oxygen equilibrium curves of mouse myoglobin. 0.05 M Tris-HCl (pH 7.6), 20°C. NaCl concentration ; 0 M (○), 0.2 M (△), 0.6 M (□) and 0.8 M (●).

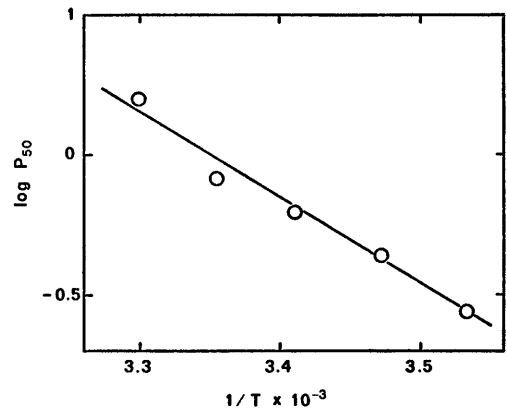


Fig. 13. Van't Hoff plot of the results as shown in Fig. 12. Ordinate ; logarithm of the oxygen tension for half-oxygenation (P₅₀) of the myoglobin, abscissa ; reciprocal of temperature (°K).

$$\frac{d \ln K}{dT} = \frac{2.303 d \log P_{50}}{dT} = -\frac{\Delta H^\circ}{RT^2} \dots \dots (4)$$

ただし、R ; 気体常数, T ; 平衡温度 (°K), K ; 反応の平衡定数, P₅₀ ; O₂ 平衡曲線から求めた半飽和 Po₂ (Torr).

Ⅳ. 考 察

Mb は骨格筋線維の cytosol 中に存在し、酸素の貯蔵³³⁾、酸素の促進拡散³⁴⁾あるいはある種の触媒作用³⁵⁾等の役割を果しているといわれている。また、ごく最近、Mb の存在により筋細胞内での O₂ 分布が均等化されるとの考え¹¹⁾も提出されている。しかしながら、その生理機能

について実験的にこれを直接証明しようとする試みは、これまでのところ必ずしも成功しているとはいえない^{7,17)}。

しかしながら、筋の機能と Mb との関わりを示す状況証拠は、これまでも多数報告されている。たとえば、Pattengale ら²⁴⁾によれば、ラットに持久的運動を負荷した場合、運動に関わった骨格筋で Mb 含量の明らかな増加がみられるのに反し、運動に直接関係しない筋では全く変化がない。同様にトレーニングにより骨格筋、特に持久的運動に関与する赤筋群の Mb 含量が増加するといういくつかの報告がなされている¹⁸⁾。しかし、このような研究での主な実験動物であるマウスやラット(げっ歯類)の Mb について、その特性を系統的に研究した報告は全くみられない。その理由としては、小動物であるため筋試料がごく僅かしか得られない(マウスの場合、1頭あたりせいぜい2g前後)こと、しかも、筋の Mb 含量がきわめて低い動物群に属する(イヌの場合の5mg/g生筋²⁰⁾に対し、マウスでは0.1~2mg/g生筋¹⁸⁾こと等があげられる。そこで今回マウス(JCL-ICR系)を用い、その骨格筋より Mb を単離、抽出、純化し、その生化学的、物理化学的、生理学的諸特性について検討した。

Mb の単離には、従来硫酸塩析法²²⁾がひろく用いられてきた。しかし、操作が煩雑で収量が低く、Mb 含量の著しく低いマウス骨格筋でこれを用いることには問題がある。この点、Bünning ら⁵⁾の熱変性ゲル濾過単離法は、きわめて簡単な操作で収量も高く、筋抽出液中の Hb の大半を変性沈澱させ分別し得るという点で優れた方法である。教室の河瀬¹⁹⁾はこの熱変性ゲル濾過法にさらにイオン交換クロマト法を組み合せ、イヌ Mb の単離、純化を行っている。今回はイオン交換クロマト法にさらにクロマトフォーカシング法を並行して用い、マウス Mb の単離、純化を行った。このようにして得た標品は、超遠心分析(沈降速度法)での Schlieren 像が左右対称の単一ピークを示すことから、分子量に関して均一であることが明らか

かである(Fig. 4)。また沈降平衡法により測定した重量平均分子量は 1.80×10^4 となり、鉄含量から求めた 1.82×10^4 、アミノ酸組成からの推定値 1.78×10^4 とよく一致した。この値はこれまでに報告されたヒト(17,450)¹¹⁾、ウマ(18,800)¹¹⁾、マッコウクジラ(17,816)¹¹⁾、イヌ(17,200)¹⁹⁾ Mb の値とほぼ同じ値であった。

Mb の1次構造については、これまですでに数十種の動物について報告されている。各種 Mb のアミノ酸組成は互によく類似するものの、種属間においてわずかな差がみられ、種属特有のパターンが存在することが知られている。今回得られたマウス Mb のアミノ酸組成は、ごく最近 Harris ら¹⁴⁾が報告した house mouse についての結果と完全に一致したが、イヌ¹⁹⁾、ウマ⁸⁾、マッコウクジラ⁹⁾とはわずかながら差がみられた(Table 1)。特に注目すべき差として、例外的な少数種(例えばヒト²⁸⁾、テナガザル²⁹⁾、マグロ¹⁶⁾)を除き、Mb では一般に存在しない Cys がマウス Mb に存在することである。ところで、Cys のもつ SH 基は時間経過とともに自酸化により-SS-結合を形成することが知られている²³⁾。したがって、分離、純化後長期間を要して濃縮したサンプルや、長期保存したサンプルにおいて、クロマト上および電気泳動上にみられた3つの画分には(Fig. 2 および 3)、Mb がこの-SS-結合を介して形成した分子間ダイマーの含まれている可能性がある。主成分である画分1において、1分子あたり1個の-SH 基が Boyer 法³⁾で滴定されるのに対し、画分2ではアミノ酸分析により1残基の Cys 存在が確認されるにもかかわらず、-SH 基が滴定されない事実(Enoki ら:未発表)や、アルカリ性下長期保存した試料で画分2の増量をみる事実(上述)は、この可能性を支持するように思われる。しかしその後の検討により、3画分ともその重量平均分子量が 1.8×10^4 前後の値を示すことから、この可能性は完全に否定される。現在のところ、上記不均質成分の本体はなお不明であるが、-SH 基の滴定結果からみて、いわゆる mixed disulfide 形成がこれに

関係しているものと考えられる (Enoki ら; 未発表).

マウス Mb の分光学的特性は, これまで報告されている他種 Mb のものとよく一致し^{1,19)}, また Ferri 型 Mb について得られたいわゆる acid-alkaline transition 平衡反応の pK' 値 (30°C で 8.57) も, 他の哺乳類 Mb での値^{4,12)} とほぼ一致した.

Reynafarje はヒト Mb および Hb の分光学的測定値より, 骨格筋中の Mb 含量の測定法を報告している²⁷⁾. しかし, 算出にあたり, ヒトの場合の係数を異種動物の場合にもそのまま適用するのは問題があると考えられる. 事実, 河瀬¹⁹⁾ はイヌ Mb につき実測により得た係数を用いた場合と, Reynafarje の係数をそのまま用いた場合とでイヌ骨格筋 Mb 含量に約 6% の差が生ずることを報告している. したがって, 今回の分光学的測定値を基礎にすれば, マウス骨格筋 Mb 含量をより正確に求めることができるはずである. 現在, これらのデータを用いマウス骨格筋における Mb 含量に関し, 筋による差および発育, 運動負荷, 非動化の影響を検討中である.

マウス Mb の O_2 平衡機能は, 他の哺乳類 Mb と同じく, アロステリックな諸特性 (ヘム間相互作用, Bohr 効果, アニオン効果) が完全に欠損しており (Fig. 10 および 11), 類似ヘム蛋白である Hb ときわめて大きなちがいを示した. またこれら O_2 平衡測定結果から求めたマウス Mb の P_{50} 値 (20°C) は, 0.69 ± 0.06 Torr とヒト, ウマ Mb の 0.65 Torr²⁾ およびイヌ Mb の 0.48 ¹⁹⁾ とほぼ同様な値を示した. また P_{50} 値の温度依存性から (Fig. 12), van't Hoff の反応定容式により算出したマウス Mb- O_2 平衡反応のエンタルピー値 -14.1 kcal/mole も, 他種動物 Mb での値 ($-13.1 \sim -16.4$ kcal/mole)²⁾ とほぼ類似の値であった.

V. 要 約

JCL-ICR 系マウス (♂) 骨格筋水抽出液から, 熱変性-ゲル透過-イオン交換クロマトグラフ

ィー (またはクロマトフォーカシング) 法により, Mb 3 画分を得た. ゲル電気泳動および超遠心分析 (沈降速度法) より均質とみられた Mb 主成分 (画分 1) について, 以下の測定結果を得た.

1. 超遠心分析 (沈降平衡法), 鉄含量測定およびアミノ酸組成から求めたマウス Mb の分子量は, それぞれ 1.80×10^4 , 1.82×10^4 , 1.78×10^4 であった.

2. クロマトフォーカシング法により求めたマウス Mb 主成分の等電点は, 7.63 ± 0.09 であった.

3. トリプシンおよびペプシン消化, 逆相 HPLC 法によるペプチド分離, ペプチドのアミノ酸分析の結果から, ホモロジー比較によって得られたマウス Mb 主成分の 1 次構造は, Harris らの最近得た結果 (FEBS L. 190, 288-292, 1985) と完全に一致した. 特に 1 分子あたり Cys 残基 1 個存在することが注目された.

4. 可視および Soret 域における deoxy-, oxy-, carboxy- 型の分光特性と, 紫外域における oxy-, carboxy- 型の分光特性を測定した. ferri- 型 Mb の pH 変化に伴うスペクトル変化から, 酸 (低スピン)-塩基型 (高スピン) 遷移平衡反応の $pK' = 8.57 \pm 0.30$ ($\mu = 0.1$, 30°C) を得た.

5. O_2 平衡機能に関しては, 他種 Mb におけると同じく, ホモトロピック, ヘテロトロピック (アニオン効果および Bohr 効果) とともにアロステリック効果をみず, 高い O_2 親和性 ($P_{50} = 0.69 \pm 0.06$ Torr, 20°C) を示した. 温度による O_2 親和性変化から算出したマウス Mb- O_2 平衡の $\Delta H'$ は, -14.1 kcal/mole であった.

謝 辞

稿を終えるにあたり, 御指導ならびに御校閲いただきました榎 泰義教授, かわらぬ御支援を賜った中牟田正幸教授に心から感謝いたします.

またアミノ酸分析, 超遠心分析における池田正彦氏, 大賀好美両氏, HPLC における沖 和泉氏の御

援助に対し感謝いたします。併せてこの研究に種々御協力いただきました教室員各位に厚く御礼申し上げます。

本論文の要旨は昭和59年3月28日、第61回日本生理学会大会において発表した。

文 献

- 1) Antonini, E. (1965) Interrelationship between structure and function in hemoglobin and myoglobin. *Physiol. Rev.* **45**, 123-170
- 2) Antonini, E. & Brunori, M. (1971) Hemoglobin and myoglobin in their reaction with ligands. Chapter 9. Specific aspects of the reactions of myoglobin with ligands. 219-234
- 3) Boyer, P. D. (1954) Spectrophotometric study of the reaction of protein sulfhydryl groups with organic mercurials. *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 4331-4337
- 4) Brunori, M., Amiconi, G., Antonini, E., Wyman, J., Zito, R. & Rossi-Fanelli, A. (1968) The transition between "acid" and "alkaline" ferric heme proteins. *Biochim. Biophys. Acta.* **154**, 315-322
- 5) Bünning, K. & Hamm, R. (1969) Präparation von reinem Myoglobin mittels der Gelchromatographie. *J. Chromatog.* **43**, 450-456
- 6) Cameron, B. F. (1965) Determination of iron in heme compounds. II. Hemoglobin and myoglobin. *Anal. Biochem.* **11**, 164-169
- 7) Cole, R. P., Wittenberg, B. A. & Caldwell, P. R. B. (1978) Myoglobin function in the isolated fluorocarbon-perfused dog heart. *Am. J. Physiol.* **234**, H 567-H 572
- 8) Dautrevaux, M., Boulanger, Y., Han, K. & Biserte, G. (1969) Structure covalente de la myoglobine de cheval. *Eur. J. Biochem.* **11**, 267-277
- 9) Edmondson, A. B. (1965) Amino-acid sequence of sperm whale myoglobin. *Nature* **205**, 883-887
- 10) 榎 泰義 (1959) ヘモグロビン酸素平衡に及ぼす塩類効果について。 *奈良医学雑誌* **10**, 345-355
- 11) Gayeski, T. E. J., Connet, R. J. & Honig, C. R. (1985) Oxygen transport in rest-work transition illustrates new functions for myoglobin. *Am. J. Physiol.* **248**, H 914-H 921
- 12) George, P. & Hanania, G. (1952) The ionization of acidic metmyoglobin. *Biochem. J.* **52**, 517-523
- 13) Harms, S. J. & Hickson, R. C. (1983) Skeletal muscle mitochondria and myoglobin, endurance, and intensity of training. *J. Appl. Physiol.* **54**, 798-802
- 14) Harris, D. E., Gurnett, A. M., Lehmann, H. & Joysey, K. A. (1985) The myoglobin of rodents *Proechimys guairae* (casiragua) and *Mus musculus* (house mouse). *FEBS Lett.* **190**, 288-292
- 15) Hill, A. V. (1910) The possible effects of the aggregation of the molecules of haemoglobin on its dissociation curves. *J. Physiol.* **40**: iv-vii
- 16) Hirs, C. H. W. & Olcott, H. S. (1964) Amino acid composition of the myoglobin of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Biochim. Biophys. Acta* **82**, 178-180
- 17) Jones, D. P. & Kennedy, F. G. (1982) Intracellular O₂ gradients in cardiac myocytes. Lack of a role for myoglobin in facilitation of intracellular O₂ diffusion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **105**, 419-424
- 18) Kagen, L. J. (1973) Myoglobin: Biochemical, physiological and clinical aspects. Columbia Univ. Press, New York.
- 19) 河瀬雅夫 (1979) トレーニング効果の生理学的基礎に関する研究——特に骨格筋ミオグロビンに関連して——I. イヌ骨格筋ミオグロビンの単離・純化とその諸特性について。 *日本生理誌* **41**, 509-521
- 20) 河瀬雅夫 (1982) トレーニング効果の生理学的基礎に関する研究——特に骨格筋ミオグロビンに関連して——II. イヌ骨格筋のミオグロビンの含量について。 *日本生理誌* **44**, 49-58
- 21) LaGow, J. & Parkhurst, L. J. (1972) Kinetics of carbon monoxide and oxygen binding for eight electrophoretic components of sperm-whale myoglobin. *Biochemistry* **11**, 4520-4525
- 22) Nakagawa, J. & Hudgins, P. C. (1968) Method for simultaneous isolation of myoglobin, cytochrome c and hemoglobin from tissue. *Anal. Biochem.* **26**, 358-363
- 23) Neurath, H. & Hill, R. L. (1977) The proteins. Volume III. 3rd Ed., Chapter 9. Academic Press Inc. New York.
- 24) Pattengale, P. K. & Holloszy, J. O. (1967) Augmentation of skeletal muscle myoglobin by a program of treadmill running. *Am. J. Physiol.* **213**, 783-785
- 25) Raftery, M. A. & Cole, R. D. (1966) On the aminoethylation of proteins. *J. Biol. Chem.* **241**, 3457-3461
- 26) Reis, D. J. & Wooten, G. F. (1970) The relationship of blood flow to myoglobin, capillary density, and twitch characteristics in red and white skeletal muscle in cat. *J. Physiol.* **210**, 121-135
- 27) Reynafarje, B. (1963) Simplified method for the determination of myoglobin. *J. Lab. Clin. Med.* **61**, 138-145

- 28) Romero Herrera, A. E. & Lehmann, H. (1971) Primary structure of human myoglobin. *Nature-New Biol.* **232**, 149-152
- 29) Romero Herrera, A. E. & Lehmann, H. (1971) The myoglobin of primates. I. *Hylobates agilis* (gibbon). *Biochim. Biophys. Acta* **251**, 482-488
- 30) Rossi-Fanelli, A., Antonini, E. & Caputo, A. (1958) Studies on the structure of hemoglobin I. Physicochemical properties of human globin. *Biochim. Biophys. Acta* **30**, 608-615
- 31) Smithies, O. (1955) Zone electrophoresis in starch gels: Group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.* **61**, 629-641
- 32) Spande, T. F. & Witkop, B. (1967) Determination of the tryptophan content of proteins with N-Bromosuccinimide. *Methods in Enzymol.* **11**, 498-506
- 33) Theorell, H. (1934) Kristallinisches Myoglobin. V. Die Sauerstoffbindungskurve des Myoglobins. *Biochem. Z.* **268**, 73-82
- 34) Wittenberg, J. B. (1970) Myoglobin-facilitated oxygen diffusion: Role of myoglobin in oxygen entry into muscle. *Physiol. Rev.* **50**, 559-636
- 35) Wu, C.-S. C., Duffy, P. & Brown, W. D. (1972) Interaction of myoglobin and cytochrome c. *J. Biol. Chem.* **247**, 1899-1903

第 38 回 西 日 本 生 理 学 会

日 時：昭和62年11月20日(金)13：00～18：20

11月21日(土)9：00～11：24

会 場：琉球大学医学部

当番幹事：金城清勝，寺嶋真一

*は非会員を示す

A-1. モルセット副腎灌流系におけるヒスタミンと I 型アレルギーによる皮質ホルモン分泌促進

相川忠臣，田中由美，嶋田敏生，*広瀬妙子，松本逸郎（長崎大，医，第一生理）

副腎内肥満細胞がアレルギー発症時の副腎皮質の応答に関与していることを明らかにする目的で，モルセット副腎灌流系を用いてヒスタミン投与時と I 型アレルギーを副腎内に起した時の皮質ホルモン分泌を調べた。この灌流系にヒスタミンを5分間投与すると， $10^{-6}M$ では軽度， $10^{-5}M$ で著明な皮質ホルモン分泌速度の上昇がみられた。ヒスタミン $10^{-5}M$ による分泌反応は血小板活性化因子 $10^{-8}M$ 5分間投与時と合成 ACTH 100 pg/ml 5分間投与時の分泌反応に較べると小さく， H_1 ブロッカーであるピリラミン $10^{-5}M$ の持続投与によって完全に抑制された。抗原である卵白アルブミンに対する IgE 活性が PCA 皮内反応で1,280倍，320倍である血清でモルセットをあらかじめ感作しておき2日後にその副腎を灌流した。抗原を灌流系に投与すると1,280倍血清感作例では著明な，320倍血清感作例では軽度の皮質ホルモン分泌促進がみられた。この分泌反応はピリラミン $10^{-5}M$ の持続投与によってほとんど抑制されなかった。以上 I 型アレルギーを副腎内に発症させると著明な皮質ホルモン分泌促進がみられるが，この分泌機序にヒスタミン以外のケミカルメディエーターが関与していることが示唆された。

A-2. 脳内肥満細胞刺激時の内分泌応答と H_1 レセプター

松本逸郎，田中由美，*広瀬妙子，嶋田敏生，相川忠臣（長崎大，医，第一生理）

脳内に存在する肥満細胞の内分泌系の調節に果たす役割を調べる目的でペントバルビタール麻酔下でイヌの第三脳室に肥満細胞刺激剤である Comp. 48/80 を投与し副腎皮質・髄質ホルモンの分泌速度，末梢血中のカテコールアミン濃度とレニン活性を測定した。Comp. 48/80 投与で血圧低下や血中ヒスタミンが上昇することなく，副腎皮質と髄質ホルモンの分泌上昇，

末梢血中の Epinephrine 濃度と ACTH およびレニン活性の上昇が見られたが，末梢血中の Norepinephrine は上昇しなかった。末梢血中の Epinephrine 濃度とレニン活性の相関は無かった。内臓神経の切除で Comp. 48/80 投与による副腎髄質ホルモン分泌とレニン活性の上昇反応は消失したが，副腎皮質ホルモンの分泌は影響を受けなかった。 H_1 レセプターのブロッカーであるピリラミンの脳室内同時投与，または抗アレルギー剤であるケトチフェンの一週間の経口投与によって Comp. 48/80 による上記の内分泌応答の上昇は減弱した。

A-3. CaF_2 による肥満細胞ヒスタミン放出

反町 勝，西村茂人，山神和比己（鹿児島大，医，第一生理）

F 処理した肥満細胞における Ca イオン添加によるヒスタミン放出に，F による N 蛋白活性化と CaF_2 生成が関与することが示唆された。そこでジギトニンや ATP と共に添加した CaF_2 による放出を調べた。5 μM ジギトニンあるいは，0.1 mM ATP 存在下で 10 mM NaF に添加した Ca は少なくとも 0.1 mM 迄濃度依存性に放出を増加させ，また Ca-EGTA buffer の添加の効果も同様であった。10 mM F 存在下では， CaF_2 の溶解度積からみて，添加 Ca 濃度の増加は， CaF_2 生成を増加させるが，遊離 Ca 濃度は，ほぼ一定に保たれると考えられ，生成 CaF_2 と放出量の間により相関がみられた。他方，ジギトニン下で 0.1 mM Ca と混合した 1~10 mM NaF による刺激では両者間の相関は悪く，遊離 F 濃度の重要性が示唆された。ジギトニン下では，10 mM NaF 単独添加は数%の放出をひきおこすにとどまったが，20 μM $AlCl_3$ の添加は，この放出を著明に増加させた。EGTA 1 mM の添加は 6 種の AIF 複合物の生成量に影響せず，放出を阻害する結果より，AIF 複合物は，N 蛋白活性化を介して Ca 存在下で放出をひきおこすと考えられた。F 単独の N 蛋白活性化作用は弱い，遊離 Ca 或は CaF_2 の存在下で有意の放出をひきおこす可能性が示唆された。

A-4. NaF 処理肥満細胞からの、Ca イオンによるヒスタミン放出機構

山神和比己, 西村茂人, 反町 勝 (鹿児島大, 医, 第一生理)

10 mM Na 処理した肥満細胞において, 0.1 mM 以上の Ca イオン添加によってみられるヒスタミン放出機構を検討した. ^3H -アラキドン酸で予め標識した細胞を F 処理すると, Ca 添加によるヒスタミン放出に伴って, アラキドン酸の放出が見られた. digitonin-permeabilized cell において, Ca と GTP アナログの共存下でアラキドン酸放出が見られるので, F 処理が N 蛋白の活性化を生じる可能性が示唆された. F 処理細胞による低濃度 Ca の取り込み量は, 対照細胞と差がみられず, Ca 透過性の上昇はないと考えられるにもかかわらず, 0.5 mM 以上の Ca 存在下での Ca 取り込み量は著増したことから, 膜内 F と外液 Ca の反応により生成した CaF_2 が何らかの役割を演ずることが示唆された. ジギトニン存在下では, より低濃度の Ca や, Ca-EGTA buffer の添加により Ca 濃度依存性に分泌が引き起こされたが, CaF_2 生成のない条件下でも有意の分泌がみられた. 以上の結果から, F 処理は, N 蛋白の部分的活性化を引き起こすし, μM レベルの Ca の存在下で有意の分泌を引き起こすが, この条件下での CaF_2 生成は, この反応をさらに増加させる可能性が示唆された.

A-5. ウサギ膀胱神経節 (VPG) におけるニコチン性伝達とセロトニン (5-HT) の作用

西村俊彦, 時政孝行, 赤須 崇 (久留米大, 医, 第二生理)

VPG は副交感神経系に属し, 膀胱利尿筋を興奮性に支配している. 今回, ウサギ VPG を用い, *in vitro* でニコチン性伝達について検討したところ, 約 50% の細胞では節前線維の低頻度刺激 (0.1~0.5 Hz 以下) では節後細胞は活動電位を発生させず, 刺激頻度を増大させると発火を始めた. これらの細胞はいわゆる high pass filter (De Groat & Saum, 1976) の性質を持っていると考えられる. 一方, 残りの細胞では節前線維の低頻度刺激でも節後細胞は発火した.

5-HT (3~100 μM) は, 灌流投与中 (5~10分) に低頻度刺激により生ぜしめたニコチン性伝達を強く抑制した. 即ち, fast-EPSP を用量依存性に抑制し, またしばしば順行性活動電位の発火を阻止した. 5-HT はアセチルコリン電位や直接刺激により発生させた活動

電位を抑制しないことからシナプス前性にニコチン性伝達を抑制すると考えられる. ところが高頻度 (5~30 Hz) に節前線維を刺激した場合, 5-HT はほとんどニコチン性伝達に影響を与えなかった. このことから, 5-HT はウサギ VPG のニコチン性伝達のもつ high pass filter としての性質を強調する働きをもつことが示唆された.

A-6. 姿勢の年令的考察

*坂本元一, 伊藤秀三郎 (姿勢保健均整専門学校)

【目的】 年令的に見て姿勢はどう変るか検討する.

【方法】 姿勢は足圧分布状況より判定する.

両足踵面 20カ所の足圧を 1 秒間隔で 30 秒間計測しパーソナルコンピュータにより解析する. (坂本式足圧計測器)

左右の足底部を 4 区分 (前 1・2 後 3・4) し姿勢を下記の如く分ける.

足底部 1・2 に足圧がかかる者	F ₁
" 3・4 " "	F ₂
" 1・3 " "	F ₃
" 2・4 " "	F ₄
" 1・4 " "	F ₅
" 2・3 " "	F ₆

尚標準変動値は各カ所の変動値を其カ所の平均値で除したものである.

被検者は年令では 11 より 60 才まで人数では年令差 5 年毎 250 名宛で男女同数とした.

【結果】 姿勢そのものには年令的に大差がないが足圧変動値はそうでもないと思われる.

A-7. 歩行時エネルギー消費量推定ノモグラムにおける性差

山崎昌廣, 鳥井正史, *山元総勝*, 佐々木隆 (熊本大, 医, 遺伝研, 生体制御・熊本リハ学院*)

歩行速度に対するエネルギー消費量の回帰式は, ほぼ 2 次曲線にあてはめることができる. 男女を比較してみると, 同じ歩行速度であれば女子のエネルギー消費量は男子より有意に少ない. これを単位体重あたりに換算するとその差は小さくなるが, それでも男女を併せた回帰式から推定すると無視できない誤差が生じてしまう. そこで, 推定式を男女に分けて作成することにした. 女子の歩行速度からのエネルギー消費量推定式は $E/BW = 2.99 - 0.0489 X + 0.0006342 X^2$, ただし, E: エネルギー消費量 (kcal/hr), BW: 体重 (kg),

X: 歩行速度 (m/min) である。

エネルギー消費量と心拍数の関係では、明らかな性差が観察された。同じエネルギー消費水準であるならば、女子の心拍数が高い値を示すのである。一方、歩行中および直後の心拍数を安静時心拍数で除した値との関係では、性差が小さくなるうえに、エネルギー消費量との相関も改善された。そこで、女子についての推定式は次の2式を採用した。E/BW=5.13×W/Rest-3.49 および E/BW=5.26×R/Rest-3.25, ただし Rest, W および R はそれぞれ立位安静時, 歩行中および直後の心拍数 (拍/min) である。これらの式および先に発表した男子のノモグラムから、エネルギー消費量尺を男女で共用する新たなノモグラムを作成した。

A-8. イヌの体位変換時 (head-up tilt) における腎交感神経活動の変化

三木健寿, 林田嘉朗*, 田島文博, 岩元 純, 佐川寿栄子, 白木啓三 (産業医大, 第二生理・応用生理*)

【目的】 意識下のイヌを使い, 40度傾斜角の Head-up tilt (HUT) を行い, 腎交感神経活動の尿量および電解質排泄量調節に果たす役割について検討した。

【方法】 8頭の雌雑種イヌを用いて, 腎交感神経活動を慢性留置電極にて, 中心静脈圧および動脈圧を慢性留置カテーテルにて測定した。血液および尿を20分毎に採取した。

【結果・考察】 HUT により, 尿量 (\dot{V}), 浸透圧活性物質排泄量 ($U_{osm}\dot{V}$), ナトリウム排泄量 ($U_{Na}\dot{V}$) は対照期に較べ50%低下した。腎交感神経活動は HUT により60%増加した。中心静脈圧は10 mmHgの低下, 動脈圧は10 mmHgの上昇を示した。一方, 慢性的に腎神経を切除したイヌでは, HUT により中心静脈圧は10 mmHg低下, 動脈圧は10 mmHg上昇したが, \dot{V} , $U_{osm}\dot{V}$, $U_{Na}\dot{V}$ に有意な変化は観察されなかった。以上の結果より, HUT は, 腎交換神経活動の増加を引き起こし, この増加が HUT に伴う \dot{V} , $U_{osm}\dot{V}$, $U_{Na}\dot{V}$ の減少を惹起させる主要因であることが示唆された。

A-9. 顎下浸水 (HOI) による下肢容積減少と尿量との関係

田島文博, 三木健寿, 白木啓三, *緒方 甫*, *中島清春**, *門司幸一** (産業医大, 第二生理・リハビリテーション医学*・人工気象室**)

中性温度での顎下浸水 (HOI) は利尿および, 毛細血管壁を介した血管内への体液移動を引き起こすことが

報告されている。今回の実験は, HOI 時の四肢容積を測定し, その体液移動が主に体のどの部位で引き起こされているのかを観察した。7名の健康成人に, 1時間の安静坐位後, 3時間の HOI を行い, 1時間毎に右前腕と両下腿の容積および尿量を測定した。その結果, 右前腕の容積変化はなかったが, 両下腿では HOI 1, 2, 3時間で, 124 ± 19 , 161 ± 19 , 192 ± 20 (平均 \pm SE) ml, それぞれ有意に ($P < 0.01$) 減少した。尿量はコントロール時 $0.4 \sim 0.5$ ml/min であったのが, HOI の1, 2, 3時間目で, それぞれ 3.1 ± 0.5 , 4.2 ± 0.8 , 2.3 ± 0.4 ml/min へと有意に ($P < 0.05$) 増加した。下腿の減少容積量から求めた下肢全体の容積減少量と HOI に引き起こされた尿増加量の相関関係は有意に ($P < 0.01$) 直線型相関を示した。以上より, HOI 時の尿増加量は下肢容積の減少量に関係があることが示唆された。この知見は, 下肢に浮腫を持つ患者に対し, HOI を治療法として臨床応用できる可能性も考えられる。

A-10. ラット大脳皮質咀嚼野の下顎反射に対する影響

笹本一茂, 張 桂新 (九大, 歯, 口腔生理)

ラットの大脳皮質には, 異なる型の咀嚼様運動を誘発できる領域が二つある。一つは一次運動野顎領域で, 便宜上前方咀嚼野 (A野) と呼ぶ。もう一つは味覚野に相当する領域で後方咀嚼野 (P野) と呼ぶ。これらの皮質領域の咀嚼運動における役割を解明する研究の一つとして, 今回は下顎反射に対する影響を調べた。

開口反射は眼窩下神経刺激により誘発し, 顎舌骨格神経あるいは顎二腹筋から記録した。下顎張反射は三叉神経中脳路核刺激により誘発し, 咬筋神経から記録した。大脳皮質の二つの咀嚼野をそれぞれ条件刺激した。A野の刺激では, 開口反射は初期促進—後期抑制の効果を受け, 下顎張反射はそれとは対照的に初期抑制—後期促進の効果を受けた。P野の刺激効果は, 開口反射に対して抑制, 下顎張反射に対し弱い促進で, これらの時間経過はA野の効果のうち初期のものにほぼ一致した。

A野の刺激により開口筋運動ニューロンに EPSP, 閉口筋運動ニューロンに IPSP が見られているが, A野の下顎反射に対する効果のうち, 初期のものはこの EPSP, IPSP によるものであろう。また, 開口反射の後期の抑制効果は一次求心神経末端でのシナプス前抑制による可能性がある。下顎張反射に対する後期の促

進は多シナプス性の EPSP によるものかも知れない。P 野の顎運動ニューロンに対する影響を見た実験はなく、P 野の顎反射に対する効果のメカニズムについては現在検討中である。

A-11. 延髄呼吸ニューロンの嚥下運動時の応答とその意義

梅崎俊郎, 堀 哲郎, 清原寿一, 中島敏博 (佐賀医科大学, 第一生理)

われわれはすでに、嚥下第二期の最中にそれまで持続的に抑制されていた吸息筋活動が一過性に増強することを見出した。そこでこのような筋活動が延髄呼吸ニューロンの司令によるものか否かを調べる目的で延髄呼吸ニューロンの ventral group をなす nucl. retroambiguus 近傍, dorsal group の ventrolateral nucleus of solitary tract と Böttinger complex とよばれる nucleus retrofacialis 近傍で単一呼吸ニューロン活動を記録し、脊髄への投射の有無を確認したのち、咽頭注水による嚥下時のその応答様式を解析した。また、嚥下時へ声門閉鎖圧および頸部食道内圧を記録し、その時の呼吸ニューロン活動の生理的意義を検討した。その結果、延髄呼吸ニューロンは嚥下第二期に入ると一斉に活動を停止するが、一部の吸息ニューロンでは一過性に活動が出現し、声門を閉じた状態で横隔膜筋が活動を増強することによって胸腔内圧を一時的に低下させていることが判明した。それによって下咽頭-食道内圧勾配が増大し、食塊移動の為の推進力を増大させるとともに、声門閉鎖を強固にし、誤嚥を防ぐのに役立っていると考えられる証拠も見出された。このように、延髄呼吸ニューロン活動の嚥下時応答は嚥下運動の中核プログラミングの一部であると考えられる。

A-12. インターロイキン-1 β と腫瘍壊死因子：中枢神経系への直接作用による摂食抑制

甲斐之尋, 大村 裕, Plata-Salaman, C. R. (九州大, 医, 第一生理)

脳と免疫機能との間の相互作用が知られている。単球はインターロイキン-1 β と腫瘍壊死因子を含有し炎症や免疫機構に関与する。リコンビナントヒト腫瘍壊死因子 (rhTNF) とリコンビナントヒトインターロイキン-1 β (rhIL-1 β) をラット脳室内に微量注入すると摂食抑制が起こる。rhIL-1 β の中枢性注入はアンジオテンシン II の中枢性飲水反応に影響せず、中枢性に

投与したよりも高濃度の rhTNF や rhIL-1 β の末梢投与はまったく無効であった。多連微小電極を用い電気泳動的に直接ニューロンに投与された rhTNF と rhIL-1 β は視床下部外側野のグルコース感受性ニューロンを有意に抑制した。反応の潜時は、 11 ± 3.3 分、持続時間は 10 ± 6.9 分 (mean \pm S. D.) であった。腹内側核のニューロンの 32% は興奮を呈したが、グルコース応答ニューロンに対して特異的な興奮は認められなかった。反応の潜時は、 5.8 ± 2.5 分、持続時間は、 5.4 ± 2.6 分であった。

A-13. Acidic Fibroblast Growth Factor (aFGF) Participation in the Regulation of Feeding

C. R. Plata-Salamán, *K. Hanai, Y. Kai and Y. Oomura (Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kyushu University)

Acidic fibroblast growth factor (aFGF) is present throughout the nervous system, acts as a mitogen and is a survival, neurotrophic agent *in vitro*. However, the *in vivo* role (S) of aFGF in the nervous system is not known.

In this report we show that an aFGF-like activity increases in the cerebrospinal fluid of rats after feeding, or after intraperitoneal injection of glucose. This aFGF-like activity was investigated using a bioassay system, that is the depression of the feeding response of hydra which is sensitive and specific to the presence of aFGF. Heparin affinity chromatographic analysis of the cerebrospinal fluid obtained after feeding revealed a chemical nature similar to that of aFGF. When aFGF was infused intracerebroventricularly to rats, food intake was suppressed. This effect was specific since food intake was suppressed during the nighttime, but either did not change or was increased during the daytime. A normal recovery occurred on the post-infusion days. The central infusion of inactivated aFGF, and the peripheral administration of aFGF were without effect. Electrophoretically applied aFGF specifically suppressed the activity of the glucose-sensitive neurons in the lateral hypothalamic area (an important site in the regulation of feeding), with little effect on the glucose-insensitive neurons.

Thus, aFGF may be one of the regulatory signals inducing satiation during feeding, by a direct action in the central nervous system. It is also interesting that the increase of aFGF in the cerebrospinal fluid after feeding might participate in the development of cerebral arterio- and/or atherosclerosis, since aFGF is a potent mitogen for endothelial and vascular smooth muscle cells.

A-14. 脳組織のレーザ局所加温による熱放散反応の比較

大渡 伸, 小坂光男 (長崎大, 熱医研, 環境生理)

(I) 視束前野・前視床下部 (PO/AH), 後視床下部 (PH), 中脳網様体を含む脳組織 9 カ所を, Power 70 mW, 照射時間 5 分の Ar レーザによる局所加温を行った。PO/AH の加温で, 著明な熱放散反応が発現し, 直腸温の有意な下降が認められた。

(II) 延髄網様体 (ORF) と PO/AH を, 45, 70, 90 mW で 10 分間レーザ加温し, 熱放散反応の誘発を試みた。PO/AH 加温では, 45 mW で耳介皮膚温上昇 ($5.48 \pm 0.7^\circ\text{C}$) 呼吸数増加 ($73 \pm 9 \text{ min}^{-1}$) により直腸温 ($-0.33 \pm 0.05^\circ\text{C}$), 脳温 ($-0.47 \pm 0.09^\circ\text{C}$) の下降が認められた。この変化は, 加温前値に比べ有意の差であった。ORF 加温では, 70 mW または 90 mW で熱放散反応が発現した。しかし, PO/AH 加温に比べ, 耳介皮膚温上昇は僅かで, 直腸温, 脳温の有意な下降ではなかった。PO/AH 加温時に心拍数の変化は認められなかったが, ORF 加温では心拍数の減少 ($58 \pm 11 \text{ bpm}$) が著明であった。これは, 迷走神経核への影響と考えられる。

(III) PO/AH 直上 2 mm の位置を局所加温すると呼吸数のみ増加した。この結果は, パンティング発現閾値が耳介皮膚血管拡張閾値より低いか, または, パンティング発現の情報受容器の広範囲な分布などが考えられる。今後, さらに実験を重ね検討する。

A-15. 容量式湿度計—発汗カプセル法における発汗量の校正曲線の改良

范 育仁, 松本孝朗, 大渡 伸, 小坂光男 (長崎大, 熱医研, 環境生理)

発汗の定量測定法として, 容量式湿度測定法 (Capacitance Hygrometry) が汎用されているが, その校正曲線が記録されていないか, または皮膚以外で物理的に測定されているにすぎない。今回, 容量式湿度

計—発汗カプセル法における発汗量の校正曲線の描記に新たな考案を試み, 発汗量の正確な測定を可能とし, 暑熱順化の中樞性・末梢性機序解明に資し, また種々疾患における発汗異常の病態解明に応用を試みた。気温 28°C , 湿度 60% の人工気象室にて被験者の両下肢に温熱刺激 (43°C 温水, 30 分) を負荷し発汗誘発し, サーモグラフィ, 容量式湿度計—発汗カプセル法により発汗潜時, 発汗閾値 口腔温, 刺激中 (20 分間), 刺激後 (5 分間) の発汗量などを各種熱放散指標と同時に記録し, また被験者の皮膚に装着した発汗カプセルの頂部にもうけた小孔からカプセル内の皮膚の上へ汗や 30°C , 0.45% NaCl 溶液を一定量注入し相対湿度曲線を連続記録し校正曲線とし, 最終的には発汗量を $\text{mg}/\text{cm}^2 \cdot \text{min}$ の単位で測定した。本法による発汗潜時, 発汗閾値口腔温はサーモグラフィによる皮膚温変化と一致, また発汗量の正確な測定が可能である点, 発汗解析に極めて有効な手段である点と考える。

A-16. ラット温熱負荷時の血流分布の変動

山田誠二, 林田嘉朗 (産業医大, 応用生理)

【目的】温熱負荷時, 胸管へ流入する所属リンパ流量を左右する重要な因子である所属血流の変動の定量化を行った。【方法】温熱負荷時の意識下のラット後肢血流 (腎動脈分枝後の腹大動脈), 内臓血流 (腎血流, 腸間膜動脈血流) をパルスドップラー血流計で測定した。【結果】対照時の後肢血流量, 腸間膜動脈血流量, 腎血流量はそれぞれ, $6.71 \pm 1.49 \text{ ml}/\text{min} \cdot 100 \text{ g}$ 体重, $4.55 \pm 1.21 \text{ ml}/\text{min} \cdot 100 \text{ g}$ 体重, $1.30 \pm 0.18 \text{ ml}/\text{min} \cdot 100 \text{ g}$ 体重であり, 2°C 結腸温を上昇させる温熱負荷により, $7.90 \pm 1.65 \text{ ml}/\text{min} \cdot 100 \text{ g}$ 体重, $3.02 \pm 1.42 \text{ ml}/\text{min} \cdot 100 \text{ g}$ 体重, $0.93 \pm 0.05 \text{ ml}/\text{min} \cdot 100 \text{ g}$ 体重になり, 後肢血流は 18% 増加し, 腸間膜動脈血流, 腎血流はそれぞれ, 34%, 29% 減少した。今, 所属血流の増減がそのままリンパの生成に寄与するとし, 内臓系のリンパの 90%, 四肢のリンパの 10% が胸管に流入するとして, 温熱負荷時の胸管リンパの変動を計算すると, 2°C 結腸温を上昇させる温熱負荷により, 胸管リンパは 25% 減少した。一方, 2°C 結腸温を上昇させた時に, 実測した胸管リンパの減少度は 30% であった。【結論】温熱負荷による血流分布の変動が胸管リンパに与える影響が大きいことが示唆された。

A-17. 体温と ABR (auditory brain-stem response) の変動

* 志清隆***, 今田育秀*(産業医大, 医, 高気圧治療部*・脳神経外科**)

ABR の各波は低体温時に latency が遅延することが知られている。今回正常ヒトと被験者とし水浸漬により加温し、食道温と直腸温を経時的に測定し、体温の変動と ABR の latency の変化について比較すると、latency の変化は食道温の変化に近い動きを示した。食道温と ABR の I-III, I-V の inferpeak latency は以下のような負の相関を示した。

$$\log(I-III) : -0.0502 \pm 0.0085^*$$

$$Q_{10} = 1.65 \pm 0.15$$

$$\log(I-V) : -0.0393 \pm 0.0044^*$$

$$Q_{10} = 1.48 \pm 0.007 \quad *p < 0.05$$

解剖学的に I-III 波の generator は橋の腹側ないし外側に位置し血流量が多く、I-V 波のそれは中脳の背側に位置し血流量の少ない部位である。したがって、得られた食道温での Q_{10} を比較検討すると、脳幹部で血流量の多い部位は食道温とほぼ同じ温度変化を示すものと考えられた。

A-18. 共鳴ラマン分光法によるセミキノン型 D-アミノ酸酸化酵素の安定化と機構の研究

二科安三, 志賀 潔 (熊本大, 医, 第一生理)

ピコリン酸はフラビン酵素である D-アミノ酸酸化酵素(DAO)のアニオン型セミキノンに 1:1 で結合し、800 nm より長波長域までブロードな電荷移動吸収帯を生ずる。解離定数の pH 依存性からこの複合体形成にはプロトンノコが関与することがわかった。これはリガンドであるピコリン酸は窒素にプロトン付加したカチオン型で結合することを示唆するものである。また、ピルビン酸と種々のアミンの共存下で DAO をハイドロサルファイトで還元すると同様の複合体が生じた。この複合体の電荷移動吸収帯での光励起(632.8 nm)による共鳴ラマンスペクトルを測定した。得たスペクトルの解析からリガンドはピルビン酸とアミンから生じたイミノ酸であり、そのイミノ窒素はプロトン付加したカチオン型であることが判明した。これらの複合体形成にはたらく力として、電荷移動相互作用に加えて、リガンドの窒素原子の正電荷と DAO のアニオン型フラボセミキノンの N(1) 近傍の負電荷との間の静電引力が重要と考えられる。遊離の DAO がハイドロサルファイトでただちに完全還元型に移行するのと

異なり、上記リガンドが共存するとセミキノン型にとどまるのは、このように DAO セミキノンがリガンドと複合体を形成することによることが明らかになった。

A-19. 免疫組織染色による酸安定性トリプシンインヒビターの組織内分布

吉田悦男, 須貝洋行, 松岡泰夫, 丸山真杉, 池田隆造, 杉木雅彦, 森本規義, 津島弘文, 江藤 靖, 浜井啓子, 林みき枝, 西浦裕美子, 美原 恒 (宮崎医大, 医, 第二生理)

酸安定性トリプシンインヒビター (ASTI) は悪性腫瘍や各種炎症性疾患などで血中におけるその活性が上昇することがわかっており急性期蛋白の一つであるが、その生理的意義についてはほとんどわかっていない。生理的役割の解明に役立つと思われる正常および悪性腫瘍組織における分布・局在について、抗 ASTI 抗体を用いた免疫組織染色を行い検討した。正常組織では腎臓の近位尿細管、胃・大腸の粘膜固有層、気管支粘膜上皮、エクリン汗腺、皮膚の重層扁平上皮、脳のグリア細胞に ASTI 免疫反応性が認められた。悪性腫瘍組織においてはほとんどの例が陽性であったが、悪性細胞の細胞質内には ASTI は認められずすべて細胞間の間質や浸潤部周辺組織に存在がみられた。以上の結果より次のことが推察された。① ASTI は腎臓の近位尿細管より排泄される。② 異物に対する生体の防御機構の一部を担っている。③ 細胞間の接着、配列、悪性化に関与している可能性あり。④ 悪性細胞の浸潤に対する宿主側の反応として局所に増加してくる。

A-20. クラゲ毒の作用とその精製について

安楽満男, 木原 大*, 大野素徳**, 橋村三郎*(鹿児島大, 医療短大・医, 第二生理*・九州大, 理, 酵素化学**)

カエル骨格筋の膜の静止時の Na の透過性を上昇させ著明な脱分極をおこすオキクラゲ (トラック島産) の粗毒 (0.1 mg/ml) の神経筋接合部に対する作用を検討した。筋の静止電位は 1 時間の作用で -30 数 mV に脱分極するが微小終板電位の頻度はわずかな減少を示した。終板電位 (EPP) は膜の脱分極に伴って減少するが静止電位の減少にもかかわらず常に記録可能であった。筋の静止電位と EPP の大きさの関係から EPP の平衡電位は -17 mV 付近であった。毒濃度を上昇

(0.3 mg/ml) させてもこの関係は変らなかつた。毒はシナプス下膜のイオン機構には著明な作用をしないと考えられた。神経終末からの伝達物質放出もほとんど影響されなかつた。カエル単一有髄神経線維の静止電位は毒の作用(90分)をうけず、閾値の上昇、活動電位のわずかな減少が観察された。他の結果を総合すると有髄神経は毒の作用をほとんどうけないものと考えられる。粗毒をCMセルロース、DEAEセルロース、ハイドロキシパタイトの組合せにより精製を行った。この精製毒をアクリルアミドゲル電気泳動法で純度検定を行ったが、明確なバンドと薄いマイナーバンドが認められた。完全な純化にあと一つ操作を加える必要があることがわかつた。

A-21. アラキドン酸カスケードの急性相反応に対する関与

渡辺達生, 坂田義行, 森本昭生, 村上 恵(山口大, 医, 第二生理)

内因性発熱物質(EP)は発熱を発現させるだけでなく、血液各種パラメーターの変動で示される急性相反応も引き起こすことが知られている。一方、近年EPはアラキドン酸(AA)カスケードを賦活して、その代謝産物の1つ、prostaglandin E₂(PGE₂)がfinal mediatorとして発熱を発現させるとする仮説が提唱されてきた。そこで今回、私共はEPによる急性相反応発現に、PGE₂を始めとするAA代謝産物が関与しているかどうかをEP、PGE₂、AAおよびAA CASCADEの酵素阻害剤を用いて検討した。その結果、EPは血漿鉄、亜鉛、銅、フィブリノーゲン濃度、そして、白血球数に変動を起こすこと、PGE₂では上生パラメーターにまったく変動を示さないことが示された。さらには、AA代謝産物は、血漿鉄、銅、フィブリノーゲン値の変動には関係しないこともわかつた。しかし、血漿亜鉛と白血球数の変動には、AA代謝産物の関与が示唆された。こうした結果は、急性相反応は、上記パラメーターがすべて変動することが要件であるという観点に立てば、AA代謝産物は、急性相反応のmediatorとして働いていないことを示唆するものと考えられる。

A-22. リコンビナントIL-1ならびにリコンビナントTNFによる発熱

坂田義行, 渡辺達生, 森本昭生, 村上 恵(山口大, 医, 第二生理)

内因性発熱物質(EP)は免疫反応に重要な役割を持ちサイトカインの一種であるinterleukin-1(IL-1)と同一物質であることが判明した。またサイトカインの中にはtumor-necrosis factor(TNF)やインターフェロンなど発熱発現に働くことが知られてきた。そこで、ヒトのリコンビナントIL-1 α ならびにリコンビナントTNFを用いて、従来から*in vitro*で作製されたEPによる発熱ならびに急性相反応(APR)と同一図式の反応がこれらのサイトカインで発現するかどうかを調べた。その結果、IL-1 α (0.5 μ g/kg)、TNF(2 μ g/kg)をウサギの静脈内に投与したとき単峰性発熱が発現し、IL-1 α (2 μ g/kg)、TNF(10 μ g/kg)の投与によって二峰性発熱がみられた。またAPRについてはIL-1 α の投与時とTNF投与後24時間には、EPとまったく同じAPRの発現を観察したが、TNF投与後8時間ではEPとはやや違った図式のAPRを認めた。さらにIL-1 α 、あるいはTNFの第三脳室内投与によってともに比較的潜時の短い単峰性発熱がみられた。APRはIL-1 α の脳室内投与によって発現したが、TNF投与ではまったく観察されなかつた。

A-23. Fura-2の細胞外流出阻止による培養 β 細胞内Ca²⁺の微小変化の検出

矢田俊彦(鹿児島大, 医, 第一生理)

Fura 2が細胞外へリークすると外液Ca²⁺と反応して蛍光(340 nm励起)の増大をもたらす。これは細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)上昇によるfura 2蛍光の増加の雑音となる。このため、fura 2のリークは[Ca²⁺]_iの微小変化、長時間変化測定障害となる。今回、fura 2のリークを軽減する方法を見だし、これを用いてTPAによるインスリン分泌増強における[Ca²⁺]_iの役割を定量的に検討した。TPAは、ラットインスリンノーマよりクローン化された β 細胞株RINm5Fからのインスリン分泌を促し、同時に[Ca²⁺]_i増加をもたらした。細胞外Ca²⁺除去は[Ca²⁺]_i上昇とインスリン分泌を同時に抑え、TPAが[Ca²⁺]_i上昇を介して分泌を促すことが示された。ProbenecidまたはSulfapyrazoneはfura 2のリークを減少させ、30分間の[Ca²⁺]_iの正確な測定を可能とし、以下の結果が得られた。(1) TPAによる[Ca²⁺]_i増は一過性で5分後ほぼ静止レベルに戻るのに対し、インスリン分泌は5分後以降強く刺激される。(2) Ca²⁺のみに依存する高K⁺刺激と比較して、TPAによる[Ca²⁺]_i増加は30分間常に小さいにも関わらずインスリン分泌の

刺激ははるかに大きい。(3) TPA のインスリン分泌刺激作用には、 Ca^{2+} ともう一つの因子が関与しているものと考えられる。

A-24. 培養したウシプロラクチン分泌細胞に対する γ -アミノ酪酸の作用

稲永清敏 (産業医大, 第一生理)

γ アミノ酪酸 (GABA) は下垂体前葉に働いてプロラクチン放出を調節している。GABA のプロラクチン放出機構に関して、電気生理学的には腫瘍細胞の一種である GH3/B6 細胞で研究がなされているが詳細な報告はない。そこでわれわれは正常なウシの下垂体前葉から分離し単層培養したプロラクチン分泌細胞を用い、パッチクランプ法により GABA の効果を調べた。解析は免疫組織学的にプロラクチン分泌細胞と同定されたものについてのみ行った。実験は塩素イオンが主の膜透過イオンと考えられるイオン環境下で行った。膜電位固定下で GABA の投与 ($1-30 \mu\text{M}$) により濃度依存性の膜電流を電流のゆらぎの増加が観察された。ノイズ解析を行い GABA 誘起のスペクトラムは 2 つの Lorentzian 関数に best-fit することがわかった。これより求められるチャンネルの平均開口は 4.6 ms と 34.5 ms であった。また、GABA_A のアゴニストである muscimol では GABA と類似した反応が得られたが、GABA_B アゴニストである baclofen では効果がなかった。GABA で誘起された反応が bicuculline で抑えられた。また、単位チャンネルで得られた膜コンダクタンスは約 20 pS だった。以上の結果は、GABA がプロラクチン分泌細胞に対して GABA_A 受容体を介してプロラクチン分泌に関与していることを示唆している。

A-25. ウシガエル交感神経節細胞での活動電位による細胞内 Ca^{2+} 濃度変化の動態

能見光雄, 久場健司 (佐賀医大, 第二生理)

活動電位発生の際の Ca^{2+} 流入による細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) の変化を蛍光 Ca^{2+} 指示薬である fura-2 を用いて観察し、以下の所見を得た。静止状態の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は電極刺入による影響を受けず約 100 nM であった。正常リンガー液中、単発の活動電位による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加は、加算平均により約 9 nM 、またその持続時間は 4.1 秒 であった。 20 nM TEA-リンガー液中では活動電位の持続時間の延長により、それらは著明に増加、延長し 25 nM 、 22.2 秒 となった。単発の活動

電位による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の減少相は後過分極電位の遅い相と対応していた。活動電位の数を増加すると $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加分は大きくなるが活動電位の数を 100 発以上ふやしても一定の値を有した。一方 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変化の持続時間は活動電位の数に応じて延長した。単発の活動電位による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変化の時間経過を基にして得られた頻回刺激での $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変化の理論曲線はその持続時間において実験値と顕著な違いを示し、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が高くなると細胞内 Ca^{2+} の life time が延長することを示唆した。これは細胞内小器官が $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を下げる場としての働きのみならず、細胞外からの Ca^{2+} 流入がなくなると取り込んだ Ca^{2+} を細胞内に放出し、高い $[\text{Ca}^{2+}]_i$ のレベルを維持することに寄与すると考えられる。

A-26. ウシガエル交感神経節細胞におけるムスカリン受容体一伝達機構によるイオンチャンネルの制御

*辻 信介, 簗田昇一, 久場健司 (佐賀医大, 第二生理)

交感神経節細胞に単一微小電極による膜電位固定法を応用し、slow EPSP の発生に関与するムスカリン受容体によるイオンチャンネル制御機構を分析した。ムスカリンの作用は細胞により異なり、 -70 mV で活性化される K^+ 電流 (I_M) を抑制する M-タイプ、 0 mV の逆転電位を示すコンダクタンス増加 (G_D) を示す D-タイプ、および 2 つの混合型の 3 種のタイプがあった。用量作用曲線から M および D-タイプの K_d はそれぞれ $0.25 \mu\text{M}$ 、 $3 \mu\text{M}$ であり、これらの値は不可逆的阻害剤により受容体を減少させても変わらなかった。ムスカリン受容体の M_1 サブタイプ阻害剤である pirenzepine が低濃度でムスカリンの M および D-タイプを共に阻害できたが、 M_2 -阻害剤である AF-DX 116 は高濃度を要した。Cキナーゼの活性剤である Oleoylacetyl glycerol ($50 \mu\text{M}$)、Phorborester dibutyrate ($1 \mu\text{M}$) はムスカリンと同様の作用を示し、しかも両者の作用に飽和現象がみられ、阻害剤の H-7 ($200 \mu\text{M}$) で 18 時間処理した細胞では I_M blocker の Ba^{2+} の作用は変わらずにムスカリンによる電流が抑制された。以上より slow EPSP は M_1 タイプのムスカリン受容体活 \rightarrow イノシトール代謝 \rightarrow Cキナーゼ活性 \rightarrow G_M , G_D チャンネルの開、開口の制御という一連の過程が解った。

B-1. ネコ睡眠覚醒段階の自動解析システム

松成重之, 桑原啓郎*, 西彰五郎 (久留米大, 医, 第一生理・久留米大, 医, 電子計算機室*)

ネコの頭頂部脳波 (EEG), 眼球運動 (EOG), および頸部筋電図 (EMG) より睡眠覚醒段階の経時的变化を得るために, ミニコンピュータを用いた自動解析システムを試作した. このシステムは無拘束ネコの EEG, EOG, EMG を real time に連続解析することができる. EEG は interval histogram 法によって δ , θ , α , β , γ および spindle の 6 波に分類し, 高振幅徐波は振幅-持続時間法により, また spindle 数はパターン認識法によって検出した. これらの解析値に EOG と EMG の解析値を組み合わせてることによって, 5 種の睡眠覚醒段階—active waking (AW), quiet waking (QW), slow wave sleep 1 (SWS-1), slow wave sleep 2 (SWS-2), および REM sleep (REM)—が自動判定された. 本システムによる判定と視察判定との一致率は, AW が $89.7 \pm 7.8\%$, QW $68.9 \pm 10.4\%$, SWS-1 $69.5 \pm 8.3\%$, SWS-2 $97.1 \pm 1.8\%$ および REM $90.2 \pm 4.1\%$ で, 睡眠覚醒の全段階においては $88.8 \pm 3.6\%$ であった. このように SWS-2 と REM においては比較的高い一致率が得られたが, QW と SWS-1 はおよそ 70% に留まっており, 両段階の解析については今後さらに検討を進めたい.

B-2. 自己統制法時の CNV の振幅の低下について

林田嘉朗, *池見 陽, 富田小百合 (産業医大, 応用生理)

自己統制法は心理学的に不安感の減少, うつ感情の低下をもたらし, 生理学的にはこれらの心理学的変化を反映する事象関連電位 (CNV) の振幅低下をひきおこす. そこで自己統制法による CNV の振幅低下の機序をしらべるために, 今回 VDT 作業における反応時間との関係を検討した. 5 週間の自己統制法訓練を行った被験者を用い VDT 作業時の頭頂または後頭と耳朶の電位を DC でテープレコーダに収録した. その中から誤答を除く反応時間の短い時の応答と長い時の応答を別々に 12 回加算平均して比較した. その結果, 短い時の応答と長い時の応答には, 自己統制法施行前後および施行中で CNV 波形に相違がみられた. また, 自己統制法施行中は, 反応時間の短い場合も長い場合も振幅低下が観察された. この低下は頭頂部も後頭部でも同様にみられた. 以上の結果, 自己統制法による CNV 振幅の低下は, Distraction を反映した反応時間

の延長によって起こったものではないことが示唆された.

B-3. 単一チャンネル電流のアナログ的手法による real time での解析

古谷野好, 久場健司, *田中光一* (佐賀医大, 第二生理・新潟大, 脳研, 神経化学*)

単一チャンネルの経時的な開確率の変化をリアルタイムで分析する方法を通常のアナログ IC の積分器の応用によって開発した. パッチクランプアンプからの出力を絶対値アンプに通し, その出力を Schmitt trigger で矩形波に変換した後積分し, その出力を開確率とした. この装置によってアナログ的に求めた開確率は, 同じデータをコンピュータを用いて求めた開確率と, きわめて良く一致した. この装置によって実験中に単一チャンネルの活動を定量的に観察することが可能であり, 伝達物質の単一チャンネルへの作用を迅速にスクリーニングできることを, 現在われわれが解析を進めているマスカリン感受性 K^+ チャンネルを例に示すことができた.

B-4. 演題取消**B-5. モルモット心室筋の収縮と弾性線維に対する elastase の作用**

*佐藤俊明, 今西 愿, 有田 真, *島田達生* (大分医大, 第二生理・第二解剖学*)

Elastase (ELA) は弾性線維の主成分 elastin の分解酵素である. われわれはモルモット摘出乳頭筋および単離心室筋細胞を用い ELA の効果を検討した. $3 \times 10^{-4} \text{ g/ml}$ の ELA は一過性に発生張力 (DT) を増大させ静止張力 (RT) を減弱させたが, $3 \times 10^{-5} \text{ g/ml}$ の ELA では DT, RT とともに減弱した. この RT 減少は, 電顕所見から心内膜下弾性線維の消化によると考えられた. またこの条件下では DT の RT 依存性が著明に低下した. ELA ($3 \times 10^{-4} \text{ g/ml}$) による一過性の DT 増加は atenolol (10^{-5} g/ml), ouabain (10^{-7} M), ryanodine (10^{-6} M) 存在下でも抑制されなかった. しかし単離心室筋細胞の膜電位固定実験から, ELA ($3 \times 10^{-4} \text{ g/ml}$) は I_{Ca} を約 20% 増加することが判明し, 本剤の一過性 DT 増大作用の原因の一つとして I_{Ca} の増加の関与が示唆された.

B-6. 甲状腺機能亢進症心筋に対する心配糖体の陽性変力作用減弱の機序

*帕尔哈提, 今永一成 (福岡大, 医, 第一生理)

甲状腺機能亢進ラット (Hyperthyroid, H) (600 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 筋注, 10日間) 摘出右心室筋に対する Ouabain の陽性変力作用が, 正常ラット (Euthyroid, E) のそれに比べ減弱していることを認め, この成因について追究した。

1) 単収縮において, HではEに比べ収縮力の増大 (420%), TPT の短縮 (424%), 1/2 弛緩時間の短縮 (426%) が認められた。2) Ouabain 10^{-8} M から 10^{-3} M まで, いずれの濃度においてもHはEに比べ有意に減弱した。3) CoQ_{10} 投与 (20 mg/kg, 筋注, 10日間) により, Eに対する Ouabain の反応は, 投与しないものに比べ有意差は認められなかったが, HではEの反応に近似した。4) 低酸素下 (3分~10分) の収縮力減少はHで強く, O_2 再添加による収縮力回復はHで弱い。 CoQ_{10} 投与によりHのこれらの反応はEに近似した。5) 右心室筋 ATP 濃度はEで約 20 $\mu\text{M}/\text{g}\cdot\text{dryweight}$, Hでは約13 μM であり, CoQ_{10} 投与によりHの値はEのそれに近似した。6) 細胞外 K^+ 5.4 mM, および 21.6 mM のとき, 細胞外 Ca^{++} の 2.5 mM から 10 mM までの変化での収縮力増強はいずれもHで強かった。以上の結果より, Hでは ATP 濃度が減少しており, そのために Na-Ca 交換による Ca^{++} 流入の障害, あるいは, Ca^{++} 貯蔵庫への Ca^{++} とり込み量が減少していることが考えられる。

B-7. モルモット心室筋活動電位に対する apamin の効果

中川 亨, 中村 淳, 有田 真 (大分医大, 医, 第二生理)

Ret の神経細胞などで Ca^{2+} -dependent K^+ channel 拮抗剤である apamin の効果を, モルモット心室乳頭筋 (多細胞) および単離細胞標本で検討した。【方法】多細胞標本は, 5.4 mM K^+ , 1.8 mM Ca^{2+} を含む normal Tyrode 液灌流下, 温度36.5°C, 刺激頻度 0.5 Hz で行なった。Slow response の実験は, 21.6 mM K^+ に 10^{-7} M isoproterenol を加えて行なった。一方, コラゲナーゼ処理で得られた単一細胞標本に対し, パックランプ用ガラス吸引電極を用いて, 細胞内電位と膜電流を測定した。刺激頻度は 0.2 Hz, 温度は30~32°Cで行なった。【結果】Apamin は, 単一細胞標本では, 活動電位と膜電流には有意な変化を与えなかつ

たが, 多細胞標本では, fast response において, 静止電位を過分極, 活動電位持続時間 (APD) を短縮させた。しかし, 同時に記録した収縮には著変なかった。Slow response の実験では, 活動電位, 収縮共抑制したが, 活動電位では, 最大立ち上がり速度の減少に比べ, APD の短縮が著明であった。収縮は2峰性を示すが, apamin はその後方成分のみを特異的に抑制した。これは, Ca^{2+} channel blocker (D-600) とは異なる反応である。【結論】Apamin は, 多細胞心室筋において膜の K^+ conductance を増加させると推定される。なお, 単一心室筋で apamin の効果がみられないのは, その作用部位の失活によるのであろう。

B-8. ラット腎被膜下移植心筋活動電位の経時的変化

西 勝英, *村本順一 (熊本大, 医, 第二生理)

哺乳動物心筋の活動電位は, 胎生後期より出生にかけて, その電流成分に変化が生じることが知られている。ラット心筋細胞では, この変化が著しく, 出生直後は活動電位持続時間は, 100~150 msec であるが, 1週間以内に 20 msec と短縮する。この成熟過程にどのような因子が関与しているかを明らかにするために, まず神経支配がなくしかも, 内的環境は同一である条件下で活動電位がどのように変化をしていくか検討を行った。近交系ラットの胎児心筋より心室筋を細切し, その小片を成熟ラット腎被膜下に移植し, 経目的に活動電位の変化を微細電極法で測定した。移植後 7~10日では, 活動電位の形態は胎児型であるが, 次第に短縮する傾向を示し, 30~40日目には, 成熟型となった。このとき, 移植心筋組織には, 神経支配が始まっていることを観察した。移植心筋は, いずれの時期にもアセチルコリンに反応して, 活動電位が短縮した。ノルエピネフリンに対しては, 移植後20~30日で反応した。以上の結果より, 胎生時より出生時にかけての心筋の電気活動の発達の变化には, 神経支配の要素が関与することが示唆された。

B-9. モルモット心室筋細胞におけるカフェイン誘発微小パルス状内向き電流

穎原嗣尚, 尾野恭一 (九州大, 医, 第二生理)

Ca 過負荷心筋では筋小胞体 (SR) に自発性振動性の Ca 放出が発生し膜電位や収縮に特異な変化を起こすが, その中で特に振動性内向き電流 (TI) は Na-Ca exchange と関連するとの議論がある。一方 SR は生

理的状态で弛緩期にも微視的レベルで Ca を放出しているという報告があるが、その生理的意義は明らかでない。このように SR の生理的機能にはなお未知の部分があると思われる。特に細胞の Ca homeostasis という観点からその形質膜機能との関係が明らかにされる必要があろう。そこで SR 由来の Ca が形質膜に対し、どのような巨視的、微視的電気現象をひき起こすかを知るため、モルモット単離心室筋細胞に膜電位固定下に高濃度カフェイン (caf) を作用させ膜電流変化を観察した。caf は広い電圧範囲で持続性の内向き電流を発生させたが、これを高 AC 増幅で観察すると高頻度スパイク状の内向き電流 (PIC) が重なっているのが見出された。PIC の平衡電位は 0 ~ -20 mV でそのコンダクタンスは 250 ~ 350 pS であった。Na を Tris で置換すると PIC は消失したが Li では消失しなかった。しかし Ni 添加により強く抑制された。PIC 発生中に細胞内 Ca 注入を行うとその発生頻度が増加し、また脱分極パルスを与えた後も発生頻度が増加した。一方 caf 作用下に細胞の半分程度を蔗糖液に浸しその部分の膜を不活化すると、PIC の振幅は減少しなかったがその発生頻度が減少した。

B-10. オイル隔絶法によるモルモット心室筋内向き整流 K 電流の電位依存性活性化過程の解析

石原圭子, 鷹野 誠, 光家 保, 野間昭典 (九州大, 医, 第二生理)

モルモット単一心室筋細胞にオイル隔絶法による膜電位固定法を適用すると、容量性電流は数百 μsec 以内に終わり、内向き整流 K 電流の速い時間依存性活性化過程を直接記録することが可能である。さらに外液の K イオンを除去すると内向き整流 K 電流が消える事実を利用して、その前後の記録の差電流を求めることにより、内向き整流 K 電流を単離できた。外向き電流がほとんど流れない 0 mV 付近の電位から E_K より負電位側に過分極させると、電流は 0 レベルから始まり、時間依存性に活性化される。これに対し E_K よりやや負電位側から過分極させた際には、電流は瞬間的に内向き電流レベルに移り、そこから時間依存性に活性化するのがみられた。電流の時間依存性活性化過程は電位で決まる単一指数関数で表わされ、その時定数は 1 ~ 2 msec と非常に小さく、膜電位が深くなるほど活性化は速くなった。これらの所見より内向き整流 K 電流の整流性は、チャンネルの開閉機構によるとの仮説を証明することができた。

B-11. モルモット心筋 Na-Ca 交換電流の逆転電位の測定

松岡 達*, 穎原嗣尚, 野間昭典 (九州大, 医, 第二生理・鳥取大, 医, 第一内科*)

モルモットの単一心室筋細胞の膜電流を細胞内灌流下 Whole cell clamp 法を用いて記録した。細胞内 Na^+ 存在下に外液 Ca^{2+} を与えると外向き電流が発生する。この外液 Ca^{2+} 依存性電流は起電性 Na-Ca 交換電流によるとされているがその逆転電位の測定には問題があった。すなわちその電流-電圧曲線が時間依存性に変移し、見かけ上の逆転電位が刺激中大きく移動する。そこで 3 Na-1 Ca 交換から予測される平衡電位を保持電位として外液に Ca^{2+} を与えるとその時間依存性変化はほとんど消失した。また内液 Ca キレート剤の濃度を高くしても抑制された。これらのことよりこの電流電圧曲線の時間依存性変化は、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇と Na^+ 濃度の減少によるものと考えられた。保持電位を理論上の平衡電位とし電流電圧曲線の変化を最少限にして外液に Ca^{2+} を与える。そして阻害剤である Ni^{2+} を外液に加え、その前後の電流電圧曲線の交点より逆転電位を測定した。その逆転電位は理論上の平衡電位とよく一致し、外液 Ca^{2+} 依存性外向き電流は Na-Ca 交換電流であり、その交換比率は 3 : 1 であることが確認できた。

B-12. 揮発性麻酔薬の作用は特異的か?

池本清海, 赤池紀生*, 尾野恭一 (九州大, 医, 第二生理・第一生理*)

全身麻酔薬は、その ED_{50} と水-脂質分配係数がよく相関することから、非特異的に膜脂質に作用し、中枢神経系を抑制すると考えられている。しかし、種々の単離神経細胞に対する作用が、個々の麻酔薬により異なることが知られており、特異的な作用も示唆されている。

われわれは、アメフラシ単離神経細胞を用いて、外液瞬時交換法により同一細胞に L-グルタミン酸 (Glu) ひきつづいてアセチルコリン (ACh) を投与し、クロライド電流 (I_{Cl}) を誘起した。揮発性全身麻酔薬エトレンのこれらの I_{Cl} に対する効果の差異について検討した。

エトレンは低濃度 Glu (0.03 ~ 0.1 mM) で誘起される I_{Cl} を増大し、ACh- I_{Cl} (ACh : 0.003 ~ 1 mM) を抑制した。これらの効果は濃度依存性であり、2 mM エンフルレンで Glu- I_{Cl} は約 1.5 倍になり、ACh- I_{Cl} は

消失した。

同一細胞の異なるアゴニストによる I_{Ca} に対するこのようなエトレンの効果の差異は、それぞれのレセプター・チャンネル複合体に対する特異的な作用を示唆する。

B-13. 海馬 CA 1, CA 3 錐体細胞の自発火に対する揮発性麻酔薬の作用

東 英穂*, 杉田俊介**, 西彰五郎* (久留米大, 医, 第一生理*・脳神経外科**)

ラット海馬スライス標本を作成し, CA 1, CA 3 錐体細胞の細胞内記録を行ない, 揮発性麻酔薬の記録槽内濃度をガスクロマトグラフィ法で常時測定しながら, 上記錐体細胞の自発性発火に対する作用を検討し, 以下の結果を得た。臨床濃度と推定される halothane (0.2~0.9 mM), isoflurane (0.3~0.8 mM), enflurane (0.4~1.4 mM) は, CA 1 錐体細胞の静的膜特性や e. p. s. p. s をまったく変化させずに, 自発性発火頻度を一過性に増加させた後, 抑制した。自発性発火の一過性増加は, 主に活動電位に続く速い TEA 感受性後過分極電位と遅い Ca 依存性後過分極電位の抑制に原因し, 自発性発火の抑制は, Na 依存性活動電位の発生閾値が 4~6 mV 脱分極側へ移動することに基因した。一方, 上記の麻酔薬は, CA 3 錐体細胞の静的膜特性にも何等影響を与えず, 動的膜特性についても CA 1 錐体細胞のそれと同様の変化を示したが, 自発性発火は, 1~3 Hz の規則的周期をもつバースト状発火に変化した。この変化は, 主に遅い Ca 依存性過分極電位の抑制と活動電位の再分極時にみられる Ca 依存性後過分極電位の著明な増大に基因した。

B-14. 迷走神経背側運動核におけるアセチルコリンの作用

*伊藤千登世, 福田敦夫, 大村 裕 (九州大, 医, 第一生理)

ラット迷走神経背側運動核 (DVM) への Acetylcholine (ACh) の作用を脳切片法で調べた。ACh は heostigmine 存在下で 90% のニューロンに膜抵抗減少を伴う脱分極を起こした。この作用は無 Na^+ 条件下では消失したが, 1 μ M TTX を含むリンガー液中では発現したので TTX 抵抗性の Na channel を介していると考えられる。同様にシナプス伝達を妨げる無 Ca^{2+} 条件下でも ACh は脱分極を引き起こしたのでこの作用は DMV ニューロンの受容体への直接的な作用で

あり, Hexamethonium はこの作用をブロックしたが Atropine, curare はブロックしなかったことから, 受容体は nicotinic 受容体であると考えられる。今回見出された DMV における nicotinic な応答は自律神経節, locus coeruleus における nicotinic な応答と類似していた。また, 孤束核 (NTS) 刺激により誘発される EPSP は Hexamethonium で抑制されることから, DMV は NTS とともに vago-vagal reflex を構成するにあたって節後細胞への司令を nicotinic に伝達し, NTS を経由する内臓情報の入力も少なくとも部分的には同じ nicotinic なメカニズムを利用して受けとっていると考えられ, ACh が迷走神経の活動の制御に重要な役割をもっていることを示唆する。

B-15. 哺乳動物中枢神経系より単離したニューロンに対する抑制性アミノ酸の作用

赤池紀扶, 金田 誠, 池本清海*, 大村 裕 (九州大, 医, 第一生理・第二生理*)

若年および成熟ラット CNS の視床下部腹内側核, 海馬錐体細胞や小脳プルキンエ細胞を単離し, 膜電位固定下に外液瞬時交換法にてグリシンや GABA を与え, 以下の結果を得た。

① グリシンと GABA はともに Cl^- コンダクタンスを増加し, 外液中 Cl^- 濃度の 10 倍変化に対して約 53 mV の平衡電位のシフトを生じる。② グリシンと GABA 応答は膜電位依存性を示し, -50 mV より過分極側でそれはより著明となる。③ グリシン応答の不活性化(脱感作)は脱分極につれて遅くなる。④ グリシン応答の活性・不活性化過程は fast と slow の 2 成分からなり, これらの時定数はグリシン濃度の上昇につれて小さくなる。⑤ GABA とグリシン応答間には交叉脱感作は生じない。⑥ ビククリンは GABA 応答を, ストリキニーネはグリシン応答を特異的に抑制する。⑦ グリシンは NMDA 応答を著明に増強する。

B-16. サルの味覚弁別学習課題

小川 尚, 伊藤真一 (熊本大, 医, 第二生理)

サルの大脳皮質味覚野ニューロンの機能を明らかにするのを目的に, 食塩水と水を弁別する GO-NOGO 課題を開発した。サルは 0.3 M 食塩が与えられたときレバーを押せば報酬として 0.3 M ショ糖を貰い, 水に対してはレバーを押さずにいなければならない。押すと罰として 0.003 M キニーネを貰う。この課題を用い

た2頭のサルは味のみを手掛かりに、約3週間で学習できた。学習成立後、食塩水の濃度を0.03 M, 0.003 Mに下げても80%以上の正答率であった。反応時間は0.3 M 食塩で1.1 s(サル MCI3)または1.3 s(サル MCI4)であり、濃度が淡くなるとやや延長した。

本課題を遂行中のサルの表情と味覚野を含む前頭弁蓋部皮質ニューロン活動を同時にビデオに記録した。食塩水とショ糖に対しては飲み口を嘗めるとか吸うなどの摂取行動を示した。しかし、キニーネに対してはセッションの初期には摂取したが、時間が経つとgaping(開口)などの拒否行動を示し閉口筋の活動も抑圧された。前頭弁蓋部ニューロン活動としては、1) 総ての溶液に対し一過性に応答するもの、2) ショ糖やキニーネなど1つの味溶液にのみ応答するもの、3) レバー押しの時期にのみ応答するもの、4) 高い自発電気が手がかり溶液で抑制を受けるもの、などが観察された。

B-17. カエル舌咽一舌下神経反射活動に及ぼす対側舌下および舌咽神経刺激の効果

村山伸樹(熊本大, 工, 電気情報)

一側の舌咽神経を電気刺激して同側の舌下神経舌前進筋支配分枝(P. br.)および舌後退筋支配分枝(R. br.)からその反射活動を記録すると、潜時20 ms以内の早期成分とそれ以後の遅期成分からなる活動が得られる。これらの反射活動を指標として、対側の舌下および舌咽神経に含まれた求心性線維の中樞神経系での役割を調べた。

対側舌咽神経の先行刺激の結果、P. br.の反射活動は早期・遅期両成分とも対照値に比べてそれぞれ最大約200%および120%増加した。一方、R. br.の活動では早期成分の約100%増加したのに対し、遅期成分は約50%の減少を示した。次に、対側舌下神経を先行刺激すると、P. br.の反射活動は早期成分で最大約150%、遅期成分で約90%の増加を示した。また、R. br.の反射活動は早期成分では有意な影響を受けなかったが、遅期成分は約40%程度増加した。このとき、対側舌下神経を刺激しただけでは記録している両分枝からその応答は得られなかった。以上の結果から、対側舌咽神経求心性線維の興奮は舌前進筋運動ニューロンへ興奮性に、舌後退筋運動ニューロンへ抑制性に作用し、一方、対側舌下神経求心性線維の興奮は舌下神経両運動ニューロンに閾値下の興奮を生じさせるものと推察された。

B-18. 味覚性入力がかん臓支配神経の電気活動に及ぼす影響

竹井 学*, 米村健一, 国武孝人, 石河延貞(宮崎医大, 医, 第一生理・小児科*)

麻酔ラットの口腔全体を味および冷温溶液で刺激した際、血圧、心拍数、迷走および交感神経心臓枝の電気的活動などに起こる変化について調べた。4基本味質のうち、1 M 食塩と10~30 mM 塩酸は、多くの場合、迷走神経心臓枝の活動を減少させ、一方交感神経心臓枝の活動は増加させて、血圧、心拍数を増加させた。特に塩酸の刺激効果が顕著であった。蔗糖、キニーネ、冷温刺激は自律神経心臓枝の活動をほとんど変化させず、心拍数、血圧にも変化を認めなかった。食塩および塩酸の刺激効果は舌咽神経切断により大部分消失したことから、舌根部に存在する舌咽神経支配野からの求心性インパルスが、口腔内の味溶液刺激による自律神経活動の変化を起こす上で重要な役割を果たしていることを示唆する。舌の食塩による刺激は胃を支配する迷走神経の遠心性インパルスを増加させるといふ報告(Jiang, Z. Y. & Nijima, A. 1986)があるが、本実験では心臓を支配する迷走神経の遠心性インパルスは食塩刺激によって減少することが観察され、このことは交感神経の活動にみられる地域差が、迷走神経の活動にも存在することを示すものといえよう。

B-19. 脱イオン水によるカエル味細胞の受容器電位

岡田幸雄, 宮本武典, 佐藤俊英(長崎大, 歯, 生理)

脱イオン水で誘発されるウシガエル味細胞の受容器電位の性質とその発現機序を調べた。3 M KClを満したガラス管微小電極を舌基部の味覚円盤内に進め、味細胞内から受容器電位を導出した。味細胞は、脱イオン水に対して平均10 mVの脱分極性の受容器電位を発生した。刺激中入力抵抗の大きさは、正常リంగాー順応時の対照値と比較すると、20%の細胞では減少し、残りの細胞では変化しなかった。受容器電位の大きさは、膜電位を脱分極側に変動させると減少し、その逆転電位は受容膜を通るCl⁻の平衡電位にほぼ一致した。脱イオン水による脱分極応答は、水にNsgluconateまたはNaClを加えると抑制された。Cl⁻の抑制作用はgluconate⁻よりも強かった。同様なことは舌咽神経積分応答でも観察された。アニオンチャンネルの阻害剤であるSITSやDIDSを0.1 mMの濃度で脱イオン水に加えると、水による舌咽神経応答と細胞内受容器電位はともに対照値の50%に減少した。以

上の結果より、水に応答する味細胞の受容膜には Cl^- チャネルが存在することを示唆する。水刺激によってそのチャネル内のアニオン結合部位からアニオンがはずれると、チャネルが開き、細胞内の Cl^- が受容膜を通して細胞外へ分泌されて、味細胞は脱分極されると考えられる。

B-20. 漸増電流刺激に対する黒質ニューロンの反応

藤村幸一, 松田好弘 (長崎大, 医, 第二生理)

モルモット黒質緻密部主細胞の漸増電流刺激に対する電氣的膜興奮反応をスライス標本で調べた。この細胞は持続の長い活動電位と adaptation (持続刺激に対する発火頻度の低下) で特徴付けられる。静止レベルの細胞に 500 nA~0.05 nA/sec の勾配の漸増電流を流すと、膜電位は刺激波形に沿った緩電位変化を経て、発火閾値に達する。発火潜時—閾値電流曲線を描くと、最大勾配刺激での閾値を頂点として、刺激勾配が小さくなるにつれ、発火潜時の延長とともに閾値が低下し、少なくとも 1 秒までは accommodation (閾下持続刺激に対する発火閾値上昇) は認められなかった。しかし刺激に先立ち弱い過分極通電 (0.1~0.4 nA) を行うと、特定の勾配範囲 (10~45 nA/sec) の刺激に対する発火が遅れ、潜時—閾値曲線上では、それに相応した第二の閾値ピークが 30~100 msec の時間帯に現れた。第二閾値ピークに対応して、発火前の緩電位変化に膜抵抗の減少を示す屈曲が見られた。両者は細胞外液への Cd^{++} (0.4 mM) や Co^{++} (5 mM) の添加で消滅したが、 Ca^{++} 除去には影響されなかった。この閾値上昇は電位依存型の一過性外向き電流 (A current) の発現によるとみられる。過分極と連動したこの閾値上昇は黒質緻密部主細胞の低頻度発火の一因をなすものであろう。

B-21. 心拍同性的 VB ニューロン活動に及ぼす針刺激効果

相川貞男, 野田和子, 秋田久直, 緒形雅則, 中村真理子, 星 俊順, 小林 勝* (北里大, 衛生, 生理・精研, ME*)

ネコ視床 VB 核よりマルチ微小電極を用い、複数個のユニット発火を同時導出した。いわゆる自発発火の中には、心拍動や呼吸運動などに同期するスパイク発火が混在している。今回は、心拍動に同期し、かつ体表末梢受容野の機械的刺激にも応ずるニューロン発火を導出し、その当該末梢受容野内・外へ心拍同期的に

針通電刺激を行ったが、電気刺激の誘発発火が一定時間先行する場合に、心拍同期発火が抑制された。受容野外の通電刺激では一般に抑制はみられなかったが、受容野近接領域の刺激でも短時間の抑制現象が認められる例もあった。

ついで、刺激強度効果を観察したが、当該受容野内を閾値の 2 倍の強度で刺激すると閾値刺激に較べ、抑制期間の延長が認められた。

以上、心拍同性的 VB ユニット発火は、当該受容野への通電刺激により抑圧され、刺激部位、刺激強度により抑制効果に差が認められた。こうした事実は、機能的経穴の存在を示すものであり、また臨床応用上、適切な刺激強度の選択が必要であることを示唆している。

B-22. 小脳室頂核刺激に対する視床下部外側野ニューロンの応答

関 炳一, 片淵俊彦, 甲斐之尋, 大村 裕 (九州大, 医, 第一生理)

本実験は麻酔 rat を用い、電気刺激により昇圧反応を起こすことが知られている小脳室頂核 (Fastigial nucleus) から、情動および自律神経系の中核である視床下部外側野 (LHA) への入力様式について、神経生理学的に検討した。細胞外記録では、contralateral stimulation によって 48% の response が見られ、30% が inhibition, 14% が excitation, 4% が excitation-inhibition を示した。またほとんどの glucose-sensitive neuron が Fastigial nucleus stimulation によって抑制されました。細胞内記録では monosynaptic IPSPs が見えた。

以上の結果によって、1. LHA neurons は Fastigial nucleus からおもに inhibitory input を受ける。
2. その inhibitory input は monosynaptic connection で、Fastigial nucleus から superior cerebellar peduncle を通して LHA へ input すると考えられる。
3. Fastigial nucleus から LHA へのほとんどの inputs は血圧変化には関与しないと考えられるが、その input を受けた LHA neurons は autonomic nervous system と behavior の functional modulation に関与していると考えられる。

B-23. LHRH ニューロン投射系の機能的多様性

久保勝知 (熊本大, 医, 生体制御)

ラット脳の 3 LHRH 投射系 (隆起漏斗系, 視素前野

系, 中脳系) 活動の相関関係を追究した. 第Ⅲ脳室に注入用管を, 中脳中心灰白質 (CG) と弓状核・正中隆起部または OVLT に灌流用二重管を植込んだ去勢雌ラットを用い, 自由行動下で心房持続採血と脳局所の push-pull 灌流連続採液を行い, 水溶性 E_2 溶液を第Ⅲ脳室に注入した. 5分毎の血中 LH と10分毎の脳灌流液中 LHRH を RIA 法で定量し, E_2 投与前後の量と拍動性の変化, 拍動性の相互関係を検討した. LH 分泌は E_2 により抑制され, 拍動分泌数が減って周期が延長した. 各部位の LHRH も拍動性を示したが E_2 によって放出量も拍動性も変化しなかった. 各 LHRH 拍動の周期は同等で, E_2 投与前の LH 拍動周期よりは長かった. また LH peak と各部位の LHRH peak 間, 各部位 LHRH peak 間の位相には明確な対応関係が見られなかった. β -endorphin 能動免疫雌ラットで同一実験を行ったところ, LH peak の時相に対して OVLT の LHRH 拍動 peak はよく位相が一致したが, CG のそれは明確な相関を示さず, 且 OVLT の peak より先行して出現した. 以上より各 LHRH 投射系は同等の周期性制御を受けながらもその活動の位相は相互に必ずしも一致せず, 各 LHRH 神経系はある程度独立した調節系の下で活動していると考えられる.

B-24. 視床下部腹内側核ニューロンの温度反応性

栗山和文, 中島敏博, 堀 哲郎 (佐賀医大, 第一生理)

体温調節中枢機構の中心である視床前野・前視床下部には, 温度ニューロン (温ニューロン20~40%, 冷ニューロン5~10%) が存在する. 今回われわれは, *in vivo* の実験では温度ニューロンが少ないと言われている視床下部腹内側核 (VMH) のニューロンの温度感受性をラットのスライス標本を用いて調べた. その結果は次の通りである. ① VMH スライスで記録された107個のニューロンのうち温ニューロンは31%冷ニューロンは2%存在する. ② 外液を無 Ca^{2+} /高 Mg_2^{+} にしてシナプス伝達を遮断しても温度感受性に変化がない primary の温および冷ニューロンが存在する. ③ 正常 Krebs 液中では, 温度に反応しないニューロンがシナプス伝達を遮断すると, 温感受性や冷感受性を示すようになり, 観察した18個の細胞のうち, おのおの4個および1個見出された. また, 温ニューロンがシナプス伝達遮断後冷感受性を示すようになるものが9個中2個, 温度反応性を失うものが3個見られた. これは VMH 内で, 他の温度ニューロンからの促

進性や抑制性の入力があるためと考えられる.

④ VMH 温度ニューロンは非ふるえ熱産生など自律性体温調節反応の発現に貢献していると想像される.

⑤ 温ニューロンの中にはグルコースで活動が促進するものもあり, 体温上昇による食欲低下の原因の少なくとも一つに, これらのニューロンの関与が考えられる.

B-25. ふるえ発現における脳幹ニューロンへの温度情報収束

浅見昭彦, 浅見豊子, 堀 哲郎, 中島敏博, 清原壽一 (佐賀医大, 第一生理)

ふるえの中枢内遠心路におけるラット脳幹ニューロンの役割を調べた. 結果は ① 局所温変化に反応した細胞は, 赤核細胞239個中35.2%, 中脳網様体 (Rf) 細胞269個中43.5%, 橋 Rf 細胞269個中64.1%, 延髄 Rf 細胞169個中73.0%見られ, 中脳, 背外側橋および延髄 Ff-脊髄路 (ST) 細胞は非脊髄路細胞に比べ, 特に冷感受性を示すものが多い. ② Rf 細胞は赤核細胞よりも視床下部や皮膚からの温度情報を受けているものが多く, 特に冷感受性を持つ Rf-ST 細胞に冷信号の収束がある. ③ 視床下部温度下降に対し活動増加を示す Rf-ST 細胞は視床下部電気刺激により抑制され, 逆の温度反応性を持つものは促進された. ④ 軽麻酔下で上記の冷信号が収束している細胞が多く記録される部位へプロカインを注入すると, ふるえと EMG 活動が抑制され, グルタメートを注入すると EMG 活動が増強した. さらに, 同部位へカイニン酸を注入し, 細胞のみ破壊した後に寒冷暴露しても, 立毛は起こるが EMG 活動に変化はなかった. 赤核や冷細胞が少ない部位の Rf への諸薬物注入ではこのような効果は見られなかった. これらの結果より, ラットの脊髄への出力細胞である Rf-ST 細胞には冷情報が収束しており, この細胞がふるえや寒冷性筋緊張に主要な役割を果たしていると考えられる.

B-26. イソアワモチ神経細胞の光受容器電位における cGMP および IP_3 の役割

後藤 司, 西 孝子, 橋村三郎 (鹿児島大, 医, 第二生理)

イソアワモチ腹部神経節における眼外光受容細胞 (A-P-1) の脱分極性の光応答は, 暗時に流れている K^+ 電流の光による減少によって発生する. この A-P-1 の暗電流または光応答は cGMP およびイノシトールミ

リン酸 (IP_3) の投与によって増大する。かくて A-P-1 の光応答は脊椎動物視細胞と同様、cGMP レベルが cGMP カスケードと呼ばれる酵素群の光活性化により減少する機構と同時に、無脊椎動物視細胞の IP_3 が IP_3 カスケードから生成されるという細胞内機構とも関係することが考えられる。実験は電圧固定、細胞内電気泳動そして RIA 法を用いてなされた。その結果 A-P-1 の cGMP レベルは光照射後、光応答に伴う電流変化とほぼ同じ時間経過に従って減少した。また GTP 結合蛋白質の活性化を阻害する GDP- β -S を注入すると、暗電流は増加するが光応答は抑制された。この抑制効果は cGMP が加えられても持続するが、 IP_3 を注入すると緩和された。次に IP_3 の生成を阻害する neomycin の注入は光応答を抑制するが、暗電流には影響しなかった。しかし同時に IP_3 を注入すると、光応答は回復した。これらの結果は、A-P-1 には GTP 結合蛋白質を共通のステップとする cGMP および IP_3 カスケードが共存し、cGMP レベルの減少が光応答を発現させ、 IP_3 がそれを修飾することを暗示する。

B-27. 色覚誘発電位は刺激色と背景色の組合せで異なる

安倍紀一郎, *田崎美恵子, *福島美香, *尾花英輔

(熊本大, 医療短大, 生理)

被検者にコンピュータ用ディスプレイを凝視させておき、これに直径 18 mm の円形模様 77 個 (縦 7 個, 横 11 個) を一瞬呈示して色刺激を行なった。色刺激と同時に平均加算装置を掃引して、後頭部から色覚誘発電位を記録した。誘発電位として刺激後 500 msec までに 3 つの陰性波 $N_1 \cdot N_2 \cdot N_3$ (それぞれの潜時は約 153, 321, 446 msec である) が記録された。刺激色が緑の場合、赤色背景と青色背景で電位に差はなかったが、赤色背景では被検者の 27% で、青色背景では 42% で N_2 が 2 峰性となった。刺激色が赤の場合、青色背景の方が緑色背景よりも N_1 の電位が大きく、また N_3 が青色背景で被検者の 54% に、緑色背景で 73% に欠如した。刺激色が青の場合、赤色背景の方が緑色背景よりも N_1 電位は大きく、 N_2 の電位は小さかった。背景色が緑の場合、刺激色が青でも赤でも N_1 の電位に差はなかったが、 N_2 の電位が青刺激の方で大きかった。背景色が赤の場合、刺激色が青でも緑でも電位に差はなかった。背景色が青の場合、 N_1 の電位は赤色刺激の方が緑色刺激よりも大きかった。以上のように、誘発電位は刺激色と背景色の組合せで異なり、 N_1 の電位は青色背景で赤色刺激が、ついで赤色背景で青色刺激が大きかった。

[お知らせ]

THE SHERRINGTON ROOM
 LIBRARY FOR THE HISTORY OF NEUROSCIENCE
 UNIVERSITY LABORATORY OF PHYSIOLOGY
 PARKS ROAD
 OXFORD OX1 3PT

THIRD ANNUAL REPORT OF
 THE SHERRINGTON LIBRARY FOR THE HISTORY OF NEUROSCIENCE

We are very pleased to be able to begin this report, as we had hoped, with the news that the Sherrington Library has now succeeded in attracting the funds necessary to secure the private library of Dr. Edwin Clarke. We are extremely grateful for grants from the British Library, the Hambland Foundation, the Nuffield Foundation, the Goldsmiths' Company, the John S. Cohen Foundation, Glaxo Holdings plc, the Garfield Weston Foundation and the Godinton Charitable Trust which have enabled the Library to make this purchase.

This collection contains books ranging from the 17th to the 20th century. It constitutes not only a rich working library of secondary sources but also includes many treasures in the form of primary sources. Among the classical works on the neurosciences are three of the most important books published in the 17th century dealing with the anatomy and function of the nervous system: T. Willis, Cerebri anatome (1664), R. Viessens, Neurographia universalis (1685) and H. Ridley, The anatomy of the brain (1695). There is also Carl Friedrich Burdach's remarkable three-volume work, Vom Baue und Leben des Gehirns (1819-1826) and books on the anatomy and physiology of the nervous system by the outstanding neuroscientists Robert Whytt (1714-1766), F.J. Gall, J.C. Spurzheim (1776-1832), Charles Bell (1774-1842), and Claude Bernard (1813-1878).

Dr. Edwin Clarke, Honorary Curator of the Sherrington Library presented the Library with a copy of his latest book, Nineteenth-Century Origins of Neuroscientific Concepts, which was published on the 20th October. He also held a seminar in the Physiology Department in June on "History and the experimental method". Dr. Clarke has now thoroughly sorted the Dewhurst papers so that they can be listed. Likewise he has sorted a collection of reprints and films lodged with the Department by the Rev. John Cole depicting the experimental work he had carried out in the Physiology Department in the 1950s with Professor Paul Glees.

Together with the Librarian, Dr. Connie Martin, Dr. Clarke prepared two exhibits, one in the Physiology Department on "The Early History of the Nerve Cell - 17th to 19th Centuries" and one concerning the development of the Sherrington Library to coincide with the 50th Anniversary of the Wellcome Trust.

Mr. Michael Miller continues his M.Sc./D.Phil. studies under the supervision of Dr. Edwin Clarke with Mr. H.R. Harre, the philosopher and historian of science. Mr. Miller presented a student talk in the Physiology Department during Trinity Term on his research topic, the history of the visualization of the nervous system.

The Librarian and Honorary Curator have continued listing the Sherrington correspondence, adding new items to the computer record as well as adding a list of subjects and persons mentioned to those letters already on record. They have also begun classifying and cataloguing the Clarke collection. Dr. Clarke has physically arranged the collection into broad subject groups and the Librarian has started listing the biographies. This cataloguing has been greatly facilitated by the introduction of an acquisitions system based on CompSoft's Delta 4 software.

During the year the Librarian conducted two more interviews which were preserved on video tape as an addition to the Library's archive. The first was with Dr. Hugh Sinclair, who talked about being a student when Sir Charles Sherrington was still Waynflete Professor and about visiting him after his retirement. He produced many fascinating items of Sherrington correspondence which he discussed. The second interview was with Professor D. Whitteridge, Waynflete Professor of Physiology from 1968-1979. Professor Whitteridge gave a vivid account not only of his time as an undergraduate student in Sir Charles' Department, but also of the period following Sir Charles' retirement. The Library is very grateful to Dr. Sinclair and to Professor Whitteridge for their help in producing these records.

Throughout the year the Library welcomed further visitors and both the Honorary Curator and the Librarian dealt with an increasing number of enquiries.

As in the past the Library has continued to receive help from many quarters. This year we wish particularly to thank Lord Dainton for his outstanding contribution to the development of the Library. We are grateful to him for his very effective advice and active support.

The next year will see a change in staff. Dr. Martin has been appointed by the British Association for the Advancement of Science to the Post of Annual Meeting Officer. She would like to take this opportunity to thank everyone for their kind help. Mrs. Linda Atkinson, BSc (Zoology), MSc (Information Studies), ALA, will take over the post of Librarian and Archivist as of 2nd November.

With the Clarke collection now secured, attention can be turned to the massive task of classification and cataloguing. Efforts will also be renewed to discover and acquire further relevant material and to publicize the holdings and services of the library. A further exhibit is being planned on the development of the knowledge concerning the form and function of nerves and it is planned to conduct further interviews. With the Annual Meeting of the British Association for the Advancement of Science taking place in Oxford in September 1988, it is envisaged that the Library will be participating in some form.

The Library wishes to thank all of you who have offered help, support and encouragement and hopes that 1987/88 will witness a further increase in your interest.

付記：Sherrington Library からの3度目のニュースが寄せられました。開設にあたって尽力された Dr. Martin は Annual Meeting Officer のポストに転職されました。(酒井)

〔日本学術会議だより〕

公開講演会開催さる

昭和63年2月 日本学術会議広報委員会

日本学術会議では、学術の成果を広く国民生活に反映浸透させるという日本学術会議法の主旨に沿うため、公開講演会を開催していますが、今回の「日本学術会議だより」では、昨年11月に開催した2つの公開講演会の講演内容を中心として、本会議の国際的活動の概要等についてお知らせします。

公開講演会「ハイテクと人類の将来」

昭和62年度第1回目の公開講演会は、「ハイテクと人類の将来」という主題の基に、11月21日、京都市の日本イタリヤ京都会館ホールで開催された。

最初に、近藤次郎本会議会長（経営工学）が、「誰が科学の進歩を止められるか—心臓移植からSDIまで—」と題して、まず、人口の増加によって示される人類の発展が科学の発展に支えられてきたことをあげた。一方では、日航機の墜落事故、TMIやチェルノブイリの原発事故、スペースシャトル爆発事故などにより多くの人命が失われたことを述べた。心臓移植などの生命科学の進歩が高度医療技術の倫理問題に関心を集め、SDI構想が宇宙の平和利用に新しい問題を提起しているなどを指摘した。そして、これからの科学・技術の発達には、人文・社会科学と自然科学の調和を図ることが大切であることを強調した。

次いで、関寛治本会議第2部会員（政治学、立命館大学教授）は、「ハイテク時代の学術ネットワークと平和の条件」と題して、新しい先端的な科学技術が実際に応用可能となってきたことに伴い、ハイテクを駆使したC&Cというネットワークが世界的に可能となり、複雑なネットワークから成る世界政治の構造に大きな変化をもたらしつつあることを指摘した。そして、このような状況を踏まえて、国家という壁を解決していかなくてはならないこと、そのためには、トロンの発想のコンピュータシステムを基礎として学術情報システムのより自由な地球的規模の再編成を行えるようにすること、人間間ネットワークの高次化による国の外交政策の在り方の再検討をすることも重要であることを強調した。

最後に、島袋嘉昌本会議第3部会員（経営学、東洋大学教授）は、「人間と高度科学技術との調和」と題して、「高度科学技術の粋を集めた航空機」の事故を

取り上げて、その大部分は人為ミスであることを指摘し、このような事故は、人間と高度科学技術の接点で、何らかのそごが生じて起きるものであることを指摘した。そして、現在人間と高度科学技術とをいかにマネージしていくかについて、十分な科学的分析と管理的配慮がなされていない。その最大の問題点は生命尊厳を基にした経営哲学の欠落であると指摘した上で、人間と高度科学技術との調和を可能にする総合科学の重要性を強調した。

公開講演会「情報化と国際化」

昭和62年度第2回目の公開講演会「情報化と国際化」が、11月28日、本会議講堂で開催され、各界各層より多数が聴講し、成功裡に終了した。

講演は、3人の演者による講演とそれに関連する質疑応答が行われた。

まず最初に、猪瀬博本会議第5部会員（情報工学、学術情報センター所長）が「情報技術と国際化」と題して、情報技術の急速な発展にふれ、歴史上未曾有の規模で産業構造転換を促し、世界の人々に革命的ともいえる意思疎通の手段を提供した情報技術は、また一方で情報の氾濫を引き起こし、貿易摩擦、雇用不安、情報の地域間格差、文化の画一化など多様な国際問題を発生させてもいると指摘した。コミュニケーションは、情報提供者と情報の受け手とのバランスが何より不可欠であるとし、それらを1) 情報流通の問題、2) 先端技術開発の問題、3) 雇用の問題、4) 文化の問題に分類し、スライドを交えて意見を述べた。

次に、竹内啓第3部会員（経済統計学、東京大学教授）が「情報化時代の国際政治・経済」と題して、国際的な情報流通を取り上げ、ますます大量にかつ急速に行われるようになる、その影響として経済・文化等が国際化から世界化・地球化（グローバル化）される傾向にある今日、一方では政治における国家主義、民

族主義との矛盾が激化するであろうと指摘した。これからの国際的力関係は、情報力の量が大きく関係してくると考えられると意見を述べた。情報化は世界を一つにする基盤を与えることができるが、それには各国の協調が不可欠の条件であるとし、21世紀中頃には国境・国籍を意識しない望ましい時代がくるようになるかもしれない、と結んだ。

最後に、宇野政雄第3部会員（商学、早稲田大学教授）が、「企業の情報化と国際化」と題して、企業も個人と同様に真剣に情報化と国際化について考え、生き残るために取り組んでいることを、身近なコンビニエンス・ストアやクレジット（信販）会社を例にとり、具体的にわかりやすく解説した。昨今 C. I.（コーポレートアイデンティティ）戦略が企業の経営戦略としてクローズアップされているが、どういふ情報（ハード）を、どのように活用（ソフト）するのが、一番の課題であると力説した。

（なお、これらの講演会の講演内容は、日学双書として、（財）日本学術協力財団から出版されます。）

二 国 間 学 術 交 流

本会議は、諸外国における学術研究の動向及び現状を把握するとともに、学術研究に関する基本的、全般的事項について相手国の科学者等と意見を交換することにより、我が国の学術研究の統合的な発展に寄与することを目的として、昭和58年度から毎年2か国へ代表団を派遣している。今までに、アメリカ合衆国、マレーシア、ドイツ連邦共和国、インドネシア共和国、スウェーデン王国、タイ王国、フランス共和国、大韓民国へ派遣したが、今年度は、11月7日から15日まで連合王国へ、12月1日から5日までシンガポール共和国へ、それぞれ会長または副会長以下7名の会員を派遣した。

日本学術会議第13期は、「学術研究の国際性重視と国際的視野の確立」をその活動の重要な柱の一つとしており、今回もその観点から交流を行った。

連合王国については、「連合王国の経済停滞とその対策」「産業革命以降の連合王国における基礎科学及び応用科学の発展」「日英のアカデミックな協力はどうかあるべきか」の三つのテーマについて、行政機関、研究所、大学等を訪問し、情報交換を行い、さらにその方面の科学者と意見交換会を行った。

シンガポールについては、「今後のアジア・太平洋圏の科学協力における日本の役割」をテーマに行政機

関、研究所、大学等を訪問し、情報交換を行い、さらにその方面の科学者と意見交換会を行った。

今回の成果は、代表団訪問時だけのものではなく、訪問国との今後の継続的な交流、緊密な情報・資料の交換、日本学術会議と訪問国関係各諸機関との相互理解の促進・緊密化等の形で表れてくるものであり、これらの成果は、我が国の学術研究の国際交流・協力の基本姿勢及びその抜本的充実方策を検討する場合の大きな資料として役立つものと期待される。

日本学術会議の国際的活動

本会議は、先に述べた二国間学術交流のほか、次のような国際活動を行っている。

国際学術団体加入

本会議は、多くの国際学術団体に加入し、密接な協力を保ち、国際的な学術の発展に努めている。昭和62年度現在、本会議が分担金を支払って加入している国際学術団体は、国際学術連合会議(ICSU)、国際社会科学団体連盟(IFSSO)等43団体である。

学術関係国際会議の開催、後援

わが国の多数の科学者が世界各国を代表する関係科学者と接し、最近の研究情報を交換し、わが国の科学の向上発達を図り、行政、産業および国民生活に科学を反映浸透させることを目的として、昭和28年以降毎年おおむね4件の学術関係国際会議を学・協会と共同主催している。昭和62年度は、1) 第6回ケムロン世界会議、2) 第18回低温物理学国際会議、3) 法哲学・社会哲学国際学会連合第13回世界会議、4) 第6回国際会計教育会議の4つを共同主催し、昭和63年度は、1) 国際家族法学会第6回世界会議、2) 第9回世界地震工学会議、3) 第8回国際内分泌学会議、4) 第5回国際植物病理学会議の4つを共同主催することとしている。

以上の国際会議のほか、毎年15件前後の国際会議（国内開催）を後援している。

代表派遣

世界各地で開催される学術関係国際会議にわが国の学術の状況を反映させ、さらに国際学術協力に寄与するため、本会議から代表を派遣している。

国際協力事業

本会議は、国際学術連合会議(ICSU)と世界気象機関(WMO)が行う「気候変動国際研究計画」(WCRP)等の国際共同・協力事業に協力するため、国内の実施計画の立案・調整を行うとともに関係研究者間の研究

連絡、交流の促進を図っている。

学術文献収集

本会議は、国際学術団体及び各国の学術研究機関等から、継続的に約1,900種の刊行物を受入れ、資料の有効利用を図っている。

生命科学と生命工学特別委員会中間報告

—生命科学の研究と教育の推進方策について—

現在、生命科学に対する関心は社会全体に広がっており、生命科学の推進のためのいろいろな活動が国、民間、学界などそれぞれの立場で行われつつある。このような時に、生命科学と生命工学特別委員会としては、広い視野に立って学問分野を横断的にとらえて、生命科学の推進方策について以下要約のごとき具体的提言を行い、各方面の意見を聴取することは非常に重要であり、時機を得たものであると考える。

【要約】

広い視野から生命科学の研究と教育の推進の方策を討議し、提案し、時に応じて企画、実行する組織として、生命科学研究教育推進会議（仮称）を設置すること。そして、この会議の事業の一つとして、まず生命科学研修コース開催のための機構をつくり、各種の研修コースを実施することが緊急に必要である。

登録学術研究団体等との連絡協議会

本会議は、本会議活動の周知を図り、学術研究団体との連絡・協力関係を維持・強化するための活動の一

環である登録学術研究団体等との連絡協議会の第2回目を、12月7日に、東日本の団体を対象にして本会議講堂で、12月11日に、西日本の団体を対象にして大阪ガーデンパレスで、それぞれ開催した。

今回の連絡協議会では、最初に、近藤次郎会長から、本会議の職務・権限や組織・構成などの説明の後、最近の活動として、去る10月の第103回総会で採択された勧告等の内容紹介などが行われた。

続いて、事務局から、現在進められている第14期会員推薦手続について、特に近々各登録学術研究団体に依頼される予定の「会員の候補者」の選定と「推薦人（予備者を含む）」の指名に関する届出の手続を中心に詳しい説明が行われた。この説明については、多くの出席者からその手続の詳細をたずねる質問が出された。

なお、出席者数は、12月7日は、339団体339名、12月11日は、58団体58名であった。

多数の学術研究団体の御協力により、「日本学術会議だより」を掲載していただくことができ、ありがとうございます。

なお、御意見・お問い合わせ等がありましたら下記までお寄せください。

〒106 港区六本木7-22-34

日本学術会議広報委員会

（日本学術会議事務局庶務課）

電話 03(403)6291

【編集後記】

「日生誌」50巻3月号がようやく出来上がりました。本号には、総説として九州大学野間昭典教授らによる「ナトリウム電流不活性化過程は活性化に依存する」、原著として奈良県立医科大学の中谷 昭先生による「マウス骨格筋ミオグロビンの単離とその諸特性について」、学会記事としては第35回西日本生理学会(昭和62年11月20~21日)の抄録が掲載されています。

興奮膜におけるイオンチャンネル、特にナトリウムイオンチャンネルの問題は、古くて新しい領域とも言えましょう。最近では、その活性化よりも、むしろ不活性化の方が一般の関心を集めているように感じられますが、二つの過程は独立ではなくて、互いに因果関係を持つような分子機構(物理化学的な説明のみならず、たとえば、run-down 現象などの生物過程についても適当な説明が可能なような機構)が、一般に不可欠のように思われます。野間教授らの総説は、その点としてもタイミングがよく、興味がありました。ただ、多少気になったのは、依然として用語が不統一なことです。たとえば、「チャンネル」←「チャンネル」、「ゲート電流」←「ゲーティング電流」など、特に外来語に多く見られます。機関誌としての本誌では、注意すべき立場にありますが、編集の段階で著者の了解のもとに勝手に統一するなどは事実として難しいことです。これらは、投稿時に各位が生理学用語集(日本生理学会編:南江堂)などを参照しながら出来るだけ統一のために努力され、不当と思われる用語は、事務局まで伝えて欲しいものです。教科書や総説を書かれる先生方には特に注意して欲しいと思います。

本誌にはそのほか、ニュースとして、Oxford 大学図書館に開設されているシェリントン・ルームから日本生理学会へのメッセージが載せられています。言うまでもなく、このルームの由来は、Edgar D. Adrian 教授とともに、1932年にニューロンの機能に関してノ

ーベル賞を受けたイギリスの誇る生理学者 Charles S. Sherrington 教授(1857~1952)を記念して、Sir John C. Eccles, Prof. R. Granit, および Prof. W. C. Gibson らの提唱によって、1984年以来開設されているものです。この度のメッセージは3度目のもので、第1回目は日生誌47巻2号(昭和60年)、第2回目は同49巻2号(昭和62年)に掲載されているもので、これに続く今回のメッセージです。歴史的に見て英国では、情報源としてのライブラリーに付属した大学・研究所という構想が昔からあります。ファンド次第では、研究にも積極的に協力するという体制をもっていると言ってよいでしょう。かねてよりの文面にもありますように、英国へ行かれる時には、そこを訪れることが、今後とも何かの形で国際協力に役立つと思われる。

また、本号には、日本学術会議便りも加えられました。来年、岡山大学のお世話で開かれる第66回日本生理学大会の案内(第1報)も出ています。先ずは、充実した内容と言えましょう。岡山の大会でも、演題数は無制限ということになっており、この情勢が今や定着してきた感もあります。しかし、反面、先だっの吉村寿人先生のご指摘(「日本生理学会への提言(1)」:本誌49巻12号)にもあったように、一方では、情報を得る手段を如何に合理化するかを考え、無差別的な演題採択の是非を皆で考える必要もありません。今や、演題数が大会あたり800題を越しており、将来増加傾向にあります。したがって、経費や運営上などで学会関係者に対する負担が過剰になる傾向が出て、その弊害が指摘されています。

編集部としては、これらの問題を含めて皆様の積極的なご意見をお寄せいただくようお願いいたしております。情報ネットワーク時代ですので、会員各位におかれまして本誌のもつ役割を一段と増す努力を払っていただき、この歴史ある日生誌を育てて行って欲しいと願う次第です。

(藤本 守)

— 編 集 委 員 —

酒 井 敏 夫(幹 事)	林 秀 生	真 野 範 一
登 坂 恒 夫	松 井 洋 一 郎	平 野 修 助
黒 島 農 汎(北海道)	丹 治 順(東 北)	本 間 信 治(関 東)
小 野 武 年(中 部)	藤 本 守(近 畿)	村 上 恵(中・四国)
堀 哲 郎(九 州)		

Hoffman Modulation Contrast System[®]



ホフマン変調コントラストシステムはガラス容器ばかりでなく、プラスチック容器でも、鮮明でハイコントラストな三次元的に見える像がえられます。培養用各種プラスチック容器での直接観察が可能で、しかも調整は非常に簡単です。

HMCSは殆どどの顕微鏡（例えばニコン倒立顕微鏡ダイヤフォト，オリンパス倒立顕微鏡1MT-2）に取り付けられます。システムにご必要なのは下記の3種類だけです。

1. モジュレーター付対物レンズ
2. コンデンサー(ターレット型又はスライダ一型) 顕微鏡名をご指示下さい
3. ポラライザー



販売元

ショーシンEM株式会社

〒444 愛知県岡崎市羽根東町2丁目8番地の5 福樹ビル

TEL (0564) 54-1231 番代表

FAX (0564) 54-3207 番

イメージングリサーチ社製

新製品

Muromachi

定量的オートラジオグラフィーシステム MCID型

Image Analysis for Bioscience

本システム(MCID型)は、近年、脳神経科学分野における画像診断の基礎的研究法として、極めて適切な手法となったオートラジオグラフィー法による脳組織代謝・循環の測定、レセプタバインディング等を、定量的に計測するために開発されたシステムです。

本システム(MCID型)は、画像制御用コンピュータユニット、画像処理用イメージングボード、画像表示ユニット、画像入力用CCDカメラ、デスクトップ型イルミネータ、テータ・プリンタ、画像カラーハードコピーカメラ等の最新の高性能ハードウェア一部と、現在、脳神経科学分野において最も必要とされている解析プログラムを内容とした システム・プログラム(BRS2MS-DOS版) から構成され、まさに脳神経科学者が待望したシステムといえるでしょう。

オートラジオグラフィーによる

- Regional cerebral blood flow
 - Local cerebral glucose utilization
 - Local cerebral protein synthesis
 - Receptor binding
- の定量に!!**



カタログ・資料、及び商品デモについては、ご一報下さい。

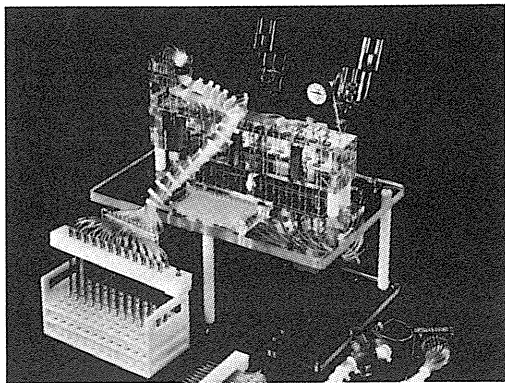
日本総代理店 **室町機械株式会社** 〒103 東京都中央区日本橋室町4-2-1大辻ビル ☎03(241)2444(代)
 〒541 大阪市東区道修町3丁目17 高原ビル ☎06(229)8260(代)

新発売

BRANDEL

あのブランドルが ついに日本にやって来た!

レセプタ・バインディング・アッセイ用 セルハーベスタ



本装置は、セル・ハーベスタのトップメーカーである米
 国ブランドル社が開発したレセプタ・バインディング
 ・アッセイ用のハーベスタであり、世界中で愛用されて
 います。

■主な特長

- 時間と労力を大幅に節約できます。
 - 一度に12本(M-12R)、24本(M-24R)又は48本(M-48R)のサンプルを均一にフィルトレーションできます。
 - 試験管(10mm-16mm O.D.)で使用できます。
 - オプションのHot-Cold Valveを使用することにより、放射性廃棄物を集めることができます。
- *レセプタ・バインディング・アッセイ用以外のセルハーベスタも各種取扱っておりますので、詳しくはカタログを御請求下さい。

日本総代理店

Muromachi

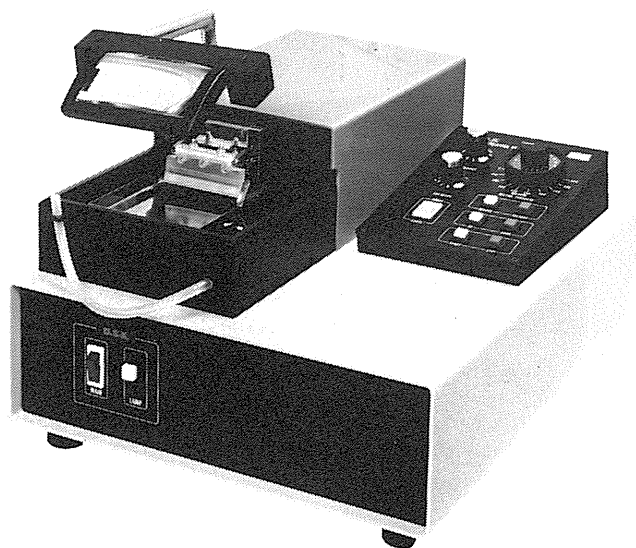
室町機械株式会社

本社 〒103 東京都中央区日本橋室町4丁目2番1号 TEL 03-241-2444
 大阪営業所 〒541 大阪市東区道修町3丁目17 高原ビル TEL 06-229-8260

D.S.K

新鮮脳のスライス作製に!

Automatic



未凍結切片作製装置

マイクロスライサー MICROSLICER

DTK-3000W

生理・薬理学の分野において、主に電位差測定にラット、ネコなどの新鮮脳切片(200~500 μ m)が用いられています。従来は、カミソリの刃をつかった手作業、あるいは未凍結切片作製のミクロトームを使用していましたが、切片の厚さが一定しなかったり、切片作製に膨大な時間がかかり、大きな切片や薄い切片が切りにくいという難点がありました。「マイクロスライサーDTK-3000W」は、これらの欠点を克服し、先生方のニーズにこたえるべく開発されました。

【特長】

- ラットはもちろんネコ・サルの全脳までも貼付可能なワイドな試料台(70×70mm)。
- 新鮮脳で約50 μ m、固定(ホルマリン・グルタル等)組織で10 μ mの均一な薄さで連続切片作製可能。
- 試料台の任意上昇(5~1,000 μ m)の自動化により、作業時間が一層短縮され、また操作性が格段にアップ。

【姉妹機】

DTK-1000・DTK-2000・DTK-3000

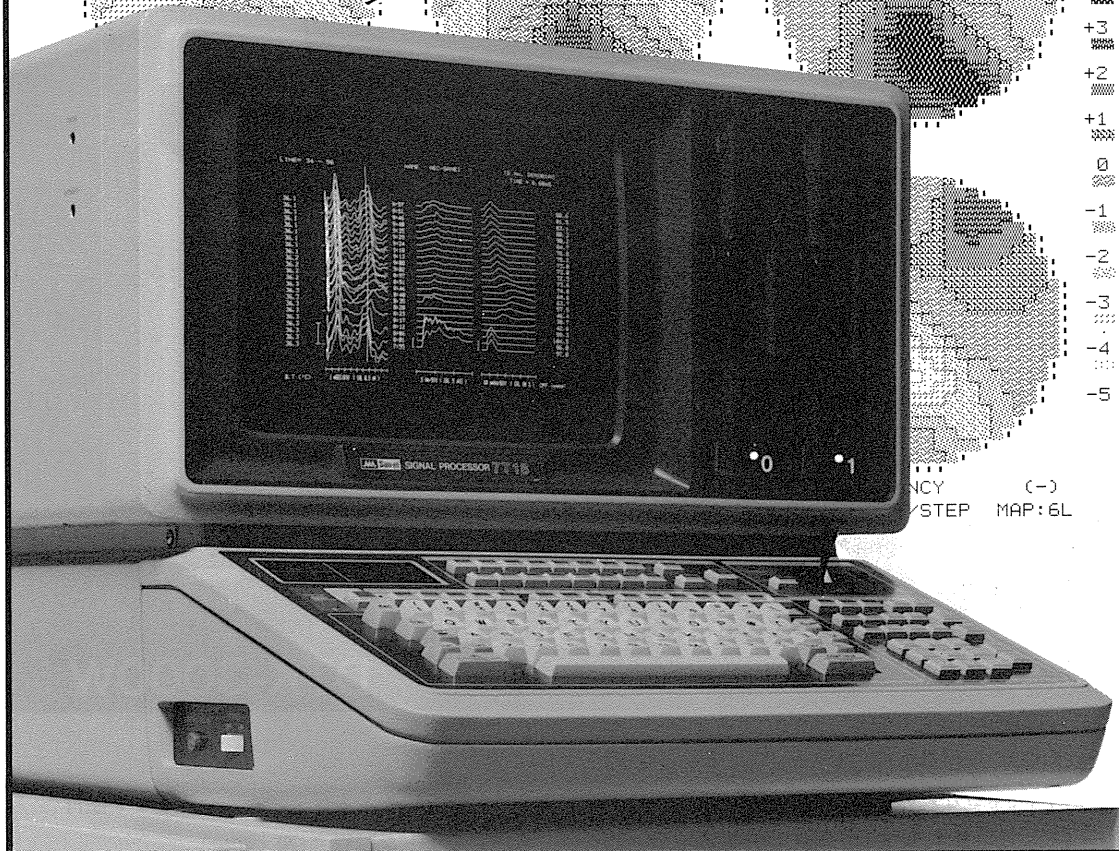
堂阪イーエム

本社・工場/〒601-11 京都市左京区静市市原町1032の3
電話 (075) 741-3069

936 μ S

スピードが、グラフックが、
生体信号処理をかえた。

+5
+4
+3
+2
+1
0
-1
-2
-3
-4
-5



NCY (-)
/STEP MAP:6L

オンラインの多チャンネル生体信号処理を実現した、シグナルプロセッサのベストセラー7T17。その実績と実力のすべてを受け継ぎながら、一段と成長した最新鋭機が7T18です。定評ある処理スピードはさらに向上、実装メモリも1Mバイトにパワーアップして適応領域がグンと拡大しました。きめ細かな画面表示はサーマルプリンタでハードコピーがとれます。生体信号処理用Signal-BASICの特殊コマンドが強化され、優れたフレキシビリティと共に高次の解析をサポートしています。また、ルーチン用として各種のアプリケーションプログラムも用意されていますので、臨床から基礎研究まで幅広い対応が可能です。

多チャンネル高速データ処理装置

シグナルプロセッサ 7T18

明日の健康と福祉を守る



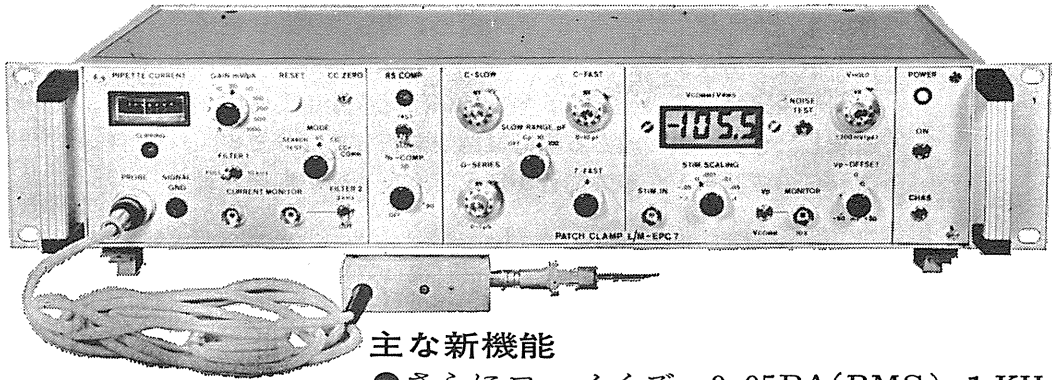
日本電気三栄

〒160 東京都新宿区大久保1-12-1 ☎03(209)0811(代表)

新製品 F.J.Sigworth・E. Neherのオリジナル

西独リスト社

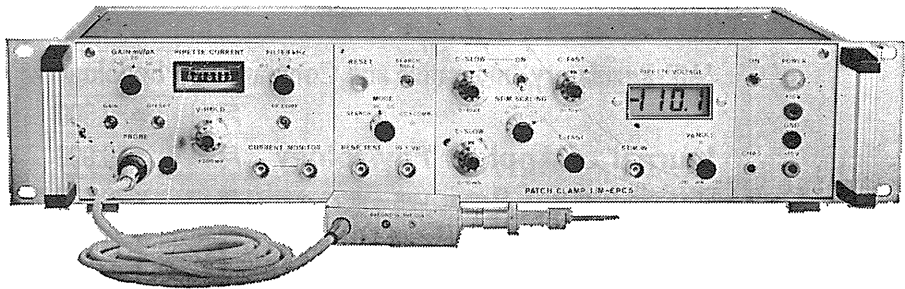
パッチクランプシステム EPC-7



主な新機能

- さらにローノイズ 0.05PA(RMS) 1 KHz
0.30PA(RMS) 10KHz
- 2レンジ切替 50GΩ 200PA
500MΩ 20nA
- R_s COMPENSATION 1~100MΩ
- 独自のTRANSIENT CANCEL機能

姉妹機 EPC-5型



東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田3丁目10番3号 コイダビル4F
TEL 03(258)1641(代)

西日本地区発売元



WORLD MEDICAL CO., LTD.
株式会社 ワールド・メデカル

〒461 名古屋市東区葵1丁目25番1号ニッシンビル701
TEL 052(937)7060



AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY

アメリカ生理学会学術誌

アメリカ生理学会は、約 100 年の歴史を誇る世界的に権威ある学会であります。

生理学の研究の進歩、発展の中で常に研究業績の最先端を追求し、数多くの由緒ある学術雑誌を発行しております。これらの雑誌も 100 年の節目を迎え新しい飛躍が期待されます。

American Journal of Physiology-Consolidated

月刊 ¥174,900

*AJP-Heart and Circulatory Physiology

月刊 ¥49,500

*AJP-Renal, Fluid and Electrolyte Physiology

月刊 ¥42,900

*AJP-Endocrinology and Metabolism

月刊 ¥35,200

*AJP-Gastrointestinal and Liver Physiology

月刊 ¥36,300

*AJP-Cell Physiology

月刊 ¥33,000

*AJP-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology

月刊 ¥39,500

Journal of Applied Physiology

月刊 ¥86,900

Physiological Reviews

季刊 ¥36,300

Journal of Neurophysiology

月刊 ¥64,900

The Physiologist

隔月刊 ¥7,700

*印は航空貨物（エアカーゴ）で送られます。

■1988年「円」価格は、版元の都合で変更されることがありますので、予めご了承下さい。

■お問い合わせは直接本社「マーケティング部」までお願いいたします。■カタログご請求下さい。

〈日本総代理店〉 **ユサコ株式会社**

-USACO-

本社 〒105 東京都港区新橋1丁目13番12号 堤ビル ☎(03)502-6473

営業所：大阪・名古屋・筑波

さらに機能充実

メモリオシロスコープ VC-11

■大型7インチCRT

大きくて明るく鮮明な単ガンCRTの採用で見やすさ抜群。

■A/D変換10ビット

分解能の向上により忠実な波形が再現できます。

■専用オプション群でグレードアップ可能

- ・反応加算、ヒストグラム解析装置：アベレージ(4ch)、ヒストグラム(1ch)
- ・ディスクメモリ装置：記憶容量(100画面 3.5インチフロッピー)
- ・データ収録用インターフェイス

■4チャンネルメモリ内蔵

4チャンネル同時に記憶可能。
(2チャンネル時1024ワード、4チャンネル時512ワード)

■4波形セーブ可能(1チャンネル)

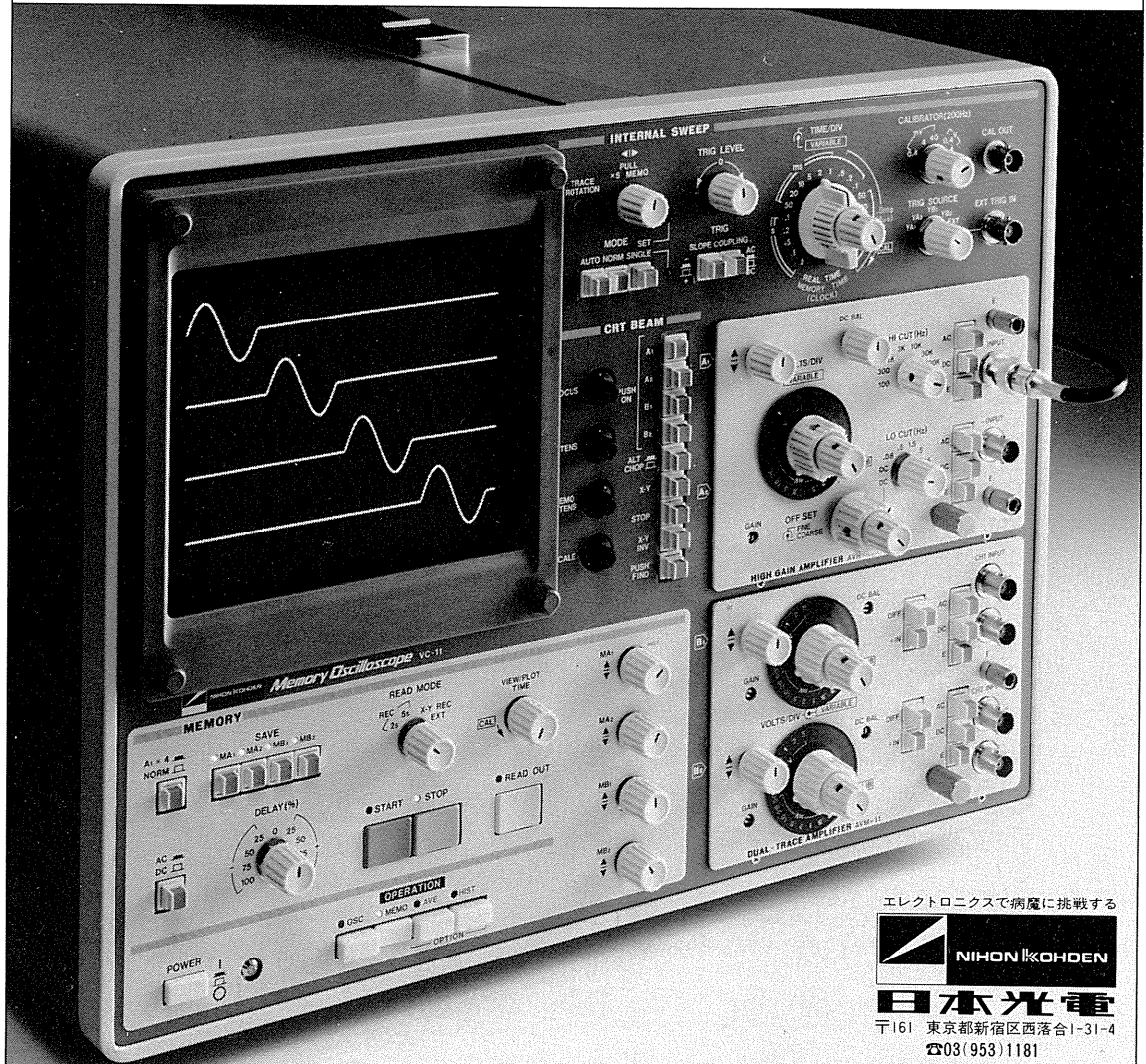
異なる条件下での波形の相互比較が容易にできます。

■メモリ読み出し時のX軸拡大可能(×5)

波形の細部を拡大して観測することができます。

■パソコン用インターフェイス内蔵

パラレルインターフェイスを内蔵。オプションでRS-232Cも用意。



エレクトロニクスで病魔に挑戦する



日本光電

〒161 東京都新宿区西落合1-31-4

☎03(953)1181

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 50, No. 3 (1988)

Review

NOMA, A. and MITSUIYE, T. : The sodium inactivation is dependent on activation.103

Original

NAKATANI, A. : Isolation and Properties of Myoglobin from Murine Skeletal Muscle.112

昭和六十三年二月二十日印刷

編集兼
 行人

酒井敏夫
東京都文京区本郷三丁目一〇
 布施ビル(四階)日本生理学会

印刷所

三浦経夫
山形県鶴岡市山王町一四二四
 鶴岡印刷株式会社

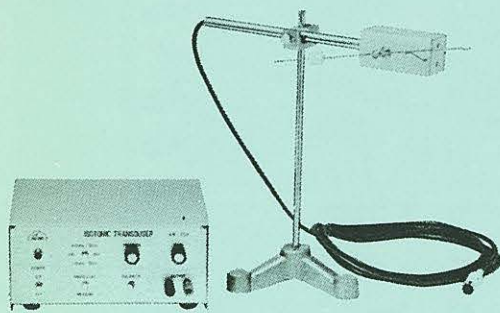
発行所

日本生理学会
〒一〇三
 東京都文京区本郷三丁目一〇
 布施ビル(四階)

電話
 替東八
 価京一
 三五一
 七六二
 百四三
 円〇四

KN-259 生体用変位計 PAT.P

トランスジューサーと増幅器からなる、微小変位測定装置です。これまでキモグラフィオン・ヘーベルを用いて行っていた測定を電氣的測定におきかえることにより、取扱いの簡便さ、再現性および信頼性を高めました。



測定範囲	0~50mm (±25mm) (中心軸より100mmの時)
分解能	無限大
最大摩擦トルク	50mg・cm以下
直線性	±3%
出力インピーダンス	5KΩ以下
校正器	10mm 極性切換スイッチ付

理化学器械・基礎医学器械・実験動物飼育機械器具・薬学研究器械・医科器械一般



株式会社

夏目製作所

〒113 東京都文京区湯島2丁目18番6号
 電話 03 (813) 3 2 5 1 (代表)
 FAX 03 (815) 2 0 0 2